

Künstliche Peptide aus β-Aminosäuren

Seminar zum OCF-Praktikum
WS 03/04

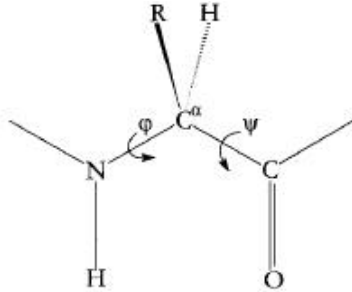
Frank Welsch

Übersicht

- Struktur und Nomenklatur von β -Aminosäuren
- Synthese von β -Aminosäuren
- Methoden zur Peptidsynthese
 - Schutzgruppen
 - Aktivierung
 - Strategien in der SyntheseSynthese eines β^2 / β^3 -Peptides
 - Mechanismen während der Synthese
- Struktur von β -Peptiden
- Anwendungen
- Literatur

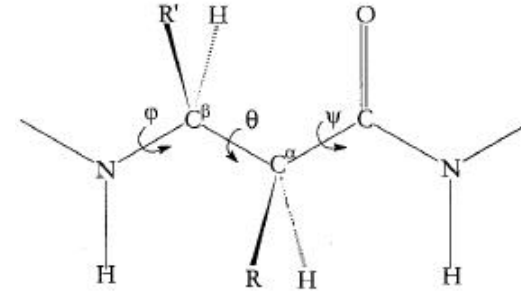
Struktur und Nomenklatur von Aminosäuren

α -Aminosäuren

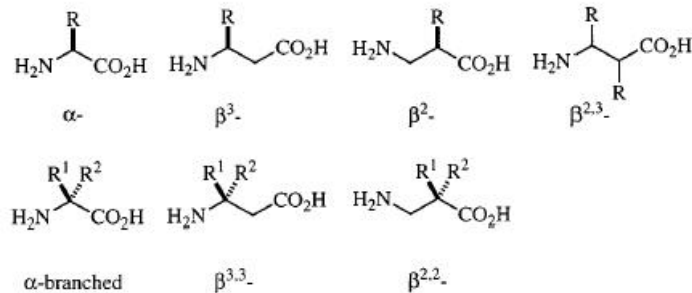


- Drehbarkeit um zwei Bindungen
- Variation von zwei Substituenten

β -Aminosäuren

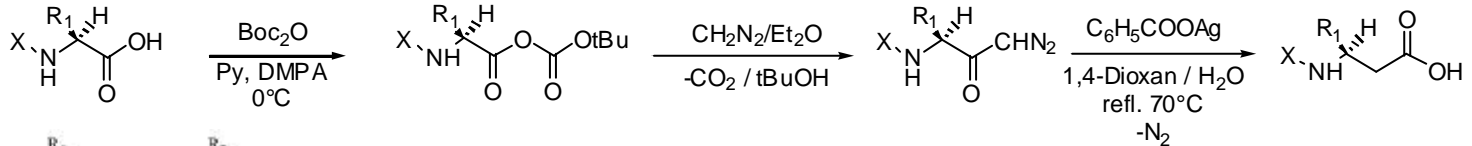


- Drehbarkeit um drei Bindungen
- Variation von vier Substituenten
- \Rightarrow **größere Vielfalt an Konstitutions- und Konfigurationsisomeren**

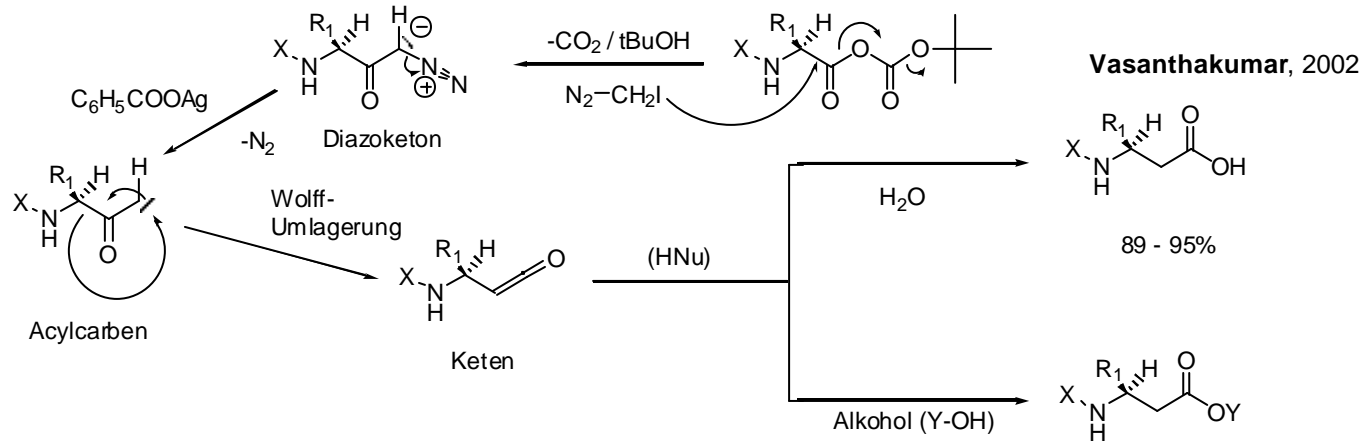
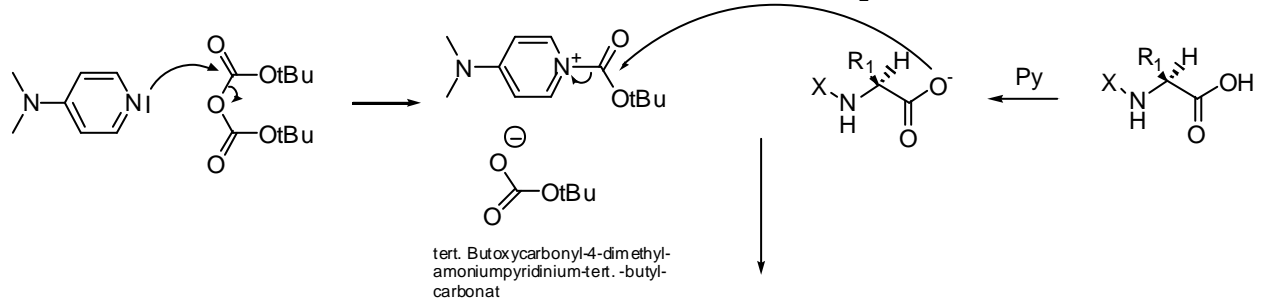


Synthese von β -Aminosäuren - β^3 -Aminosäuren

Homologisierung von α -Aminosäuren mit Hilfe der Arndt-Eistert Reaktion



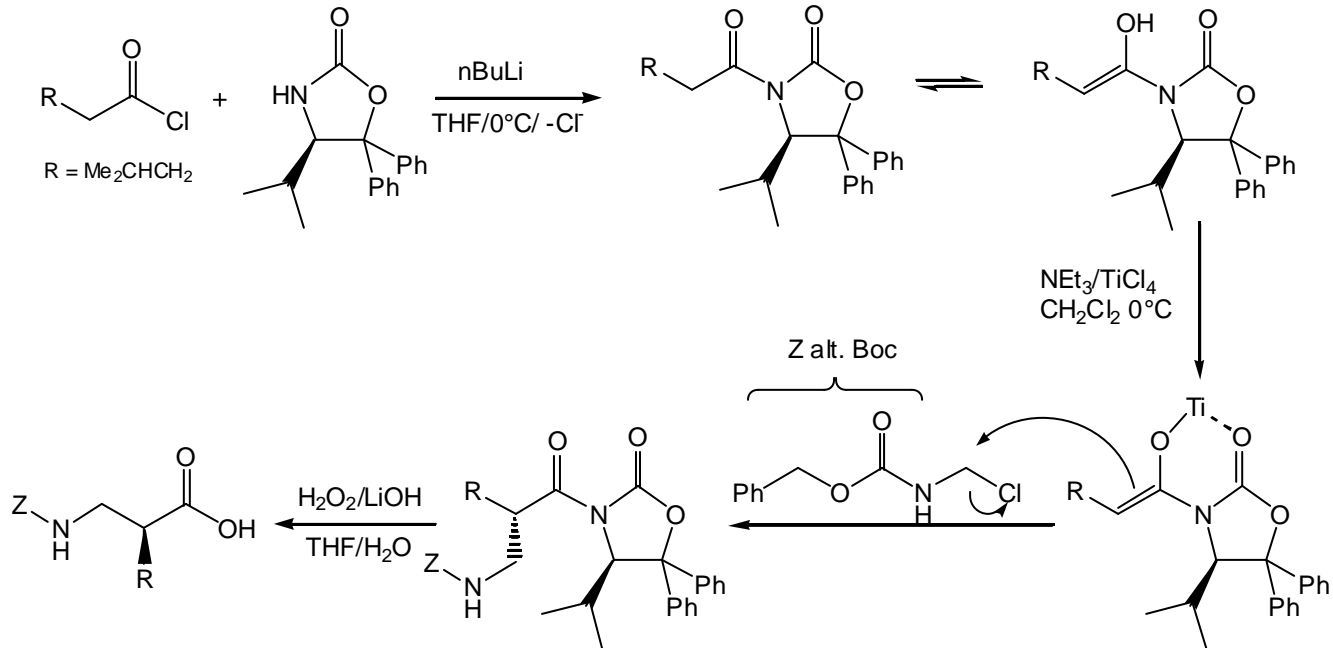
X	R ₁	R ₂
a: Fmoc	H	H
b: Fmoc	CH(CH ₃) ₂	H
c: Fmoc	CH ₂ COO ^t Bu	H
d: Fmoc	(CH ₂) ₄ NHBoc	H
e: Boc	R ₁ -R ₂ = (CH ₂) ₃	H
f: Boc	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	H
g: Boc	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₂	H
h: Z	CH ₂ C ₆ H ₅	H
i: Z	C ₆ H ₅	H



Seebach, 2003

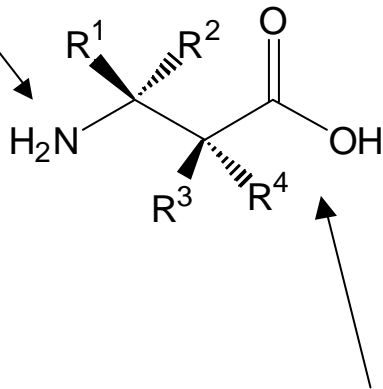
Synthese von β -Aminosäuren - β^2 -Aminosäuren

Diastereoselektive Amidomethylierung eines Ti-Enolates gebildet aus einem acylierten Oxazolidinon-Auxiliar



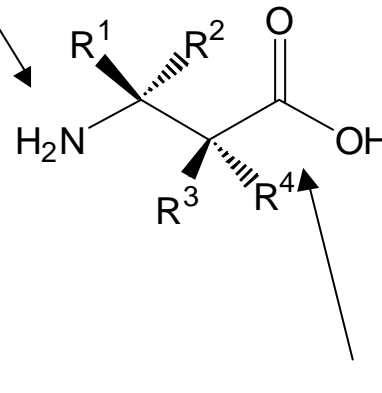
Peptidsynthesen – Schema

Schutz am N-Terminus



Carbonylkomponente

Kupplung am N-Terminus



Aminokomponente

Zusätzlich evtl. Schutz von funktionellen Gruppen in der Seitenkette

Peptidsynthese - Synthesemethoden

Flüssigphasensynthese (SPS)

- Synthese in Lösung
- Variable Wahl der Schutzgruppen
- Aufbau des Peptides vom N- zum C-Terminus
- Vorteile:
 - eindeutiger Verlauf der Synthese
 - Möglichkeit der Reinigung nach jedem Kupplungsschritt (Umkristallisation)
 - Reaktionskontrolle (NMR)
- Nachteile:
 - geringe Ausbeute
 - hoher zeitlicher Aufwand
 - Nicht automatisierbar

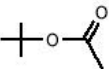
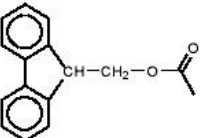
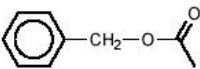
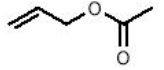
Festphasensynthese (SPPS)

- Synthese an suspendierten PS-Kugeln
- Boc- und Fmoc-Variante
- Aufbau des Peptides vom C- zum N-Terminus
- Vorteile:
 - höhere Ausbeuten (wegen quantitativen Überschuß)
 - Abtrennung der Edukte durch Filtration und Auswaschen des Harzes
 - automatisierbar
- Nachteile:
 - Umsetzung nicht quantitativ
⇒ Bildung von Fehlsequenzen
⇒ Aufreinigung durch aufwendige Analytik

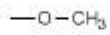
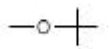
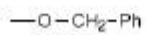
⊞ **Kombination beider Synthesemöglichkeiten zum Erreichen optimaler Ergebnisse**

Peptidsynthese - Schutzgruppen

N-Terminale Schutzgruppen

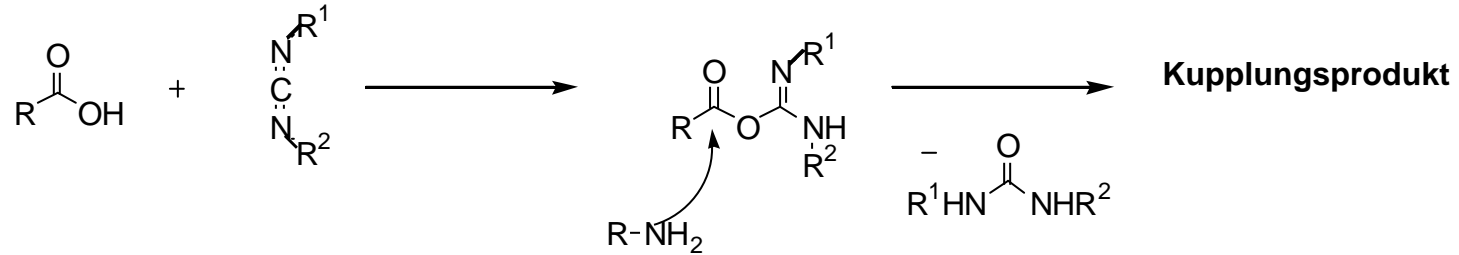
Abk.	Name	Formel	stabil	labil
Boc	t-Butoxycarbonyl		Base, Hydrierung	Säure
Fmoc	9-Fluorenyl-methoxycarbonyl		Säure, Hydrierung	Base (Amin)
Z	Benzyloxy-carbonyl		Base, schwache Säure	H ₂ /Pd, starke Säure
Aloc	Allyloxycarbonyl		schwache Base, TFA	Pd ⁰ , Amin oder Dimedon

C-Terminale Schutzgruppen

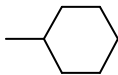
Abk.	Name	Formel	Spaltung durch
-OMe	Methylester		Alkali-Base
-OtBu	t-Butylester		Säure
-OBn	Benzylester		H ₂ /Pd

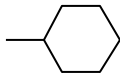
Peptidsynthese – Aktivierungsmethoden am C-Terminus

Carbodiimid-Methode (Sheehan, Hess 1955)



Nachteil: - Racemisierung

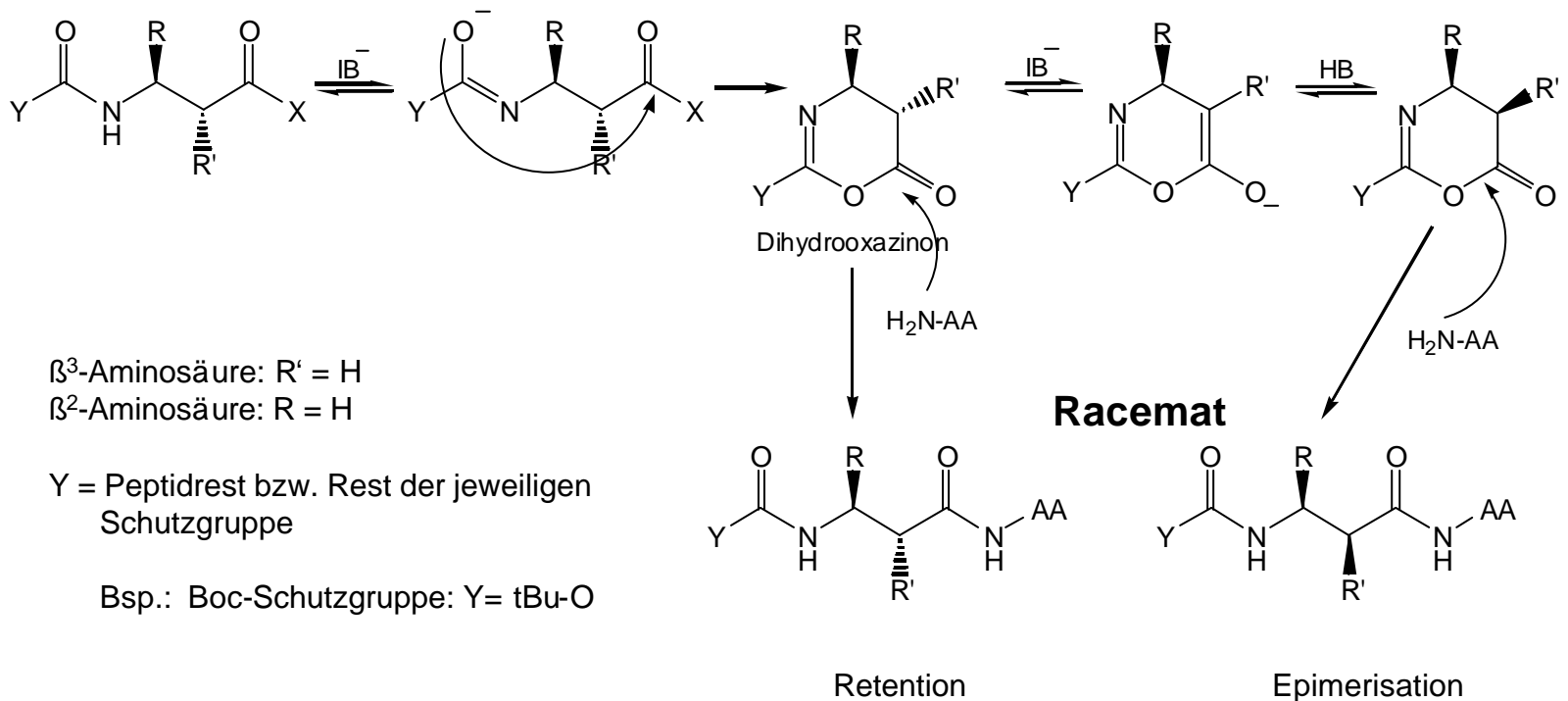
- wenn $R^1; R^2 =$  ist das Produkt der Umlagerung Dicyclohexylharnstoff
 \Rightarrow wasserunlöslich
 DCC

Lösung: $R^1 =$  \Rightarrow Produkt wasserlöslich
 $R^2 =$ $-(CH_2)_3-N(CH_3)_2 \cdot HCl$
 EDC

Peptidsynthese – Probleme bei der Aktivierung

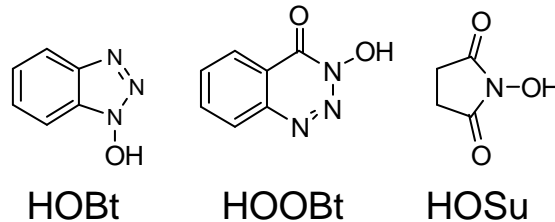
Bei zu starker Aktivierung am C-Terminus einer an der β -Position einfach substituierten Carbonylkomponente

⇒ Bildung von Dihydrooxazonen ⇒ **Racemisierung**

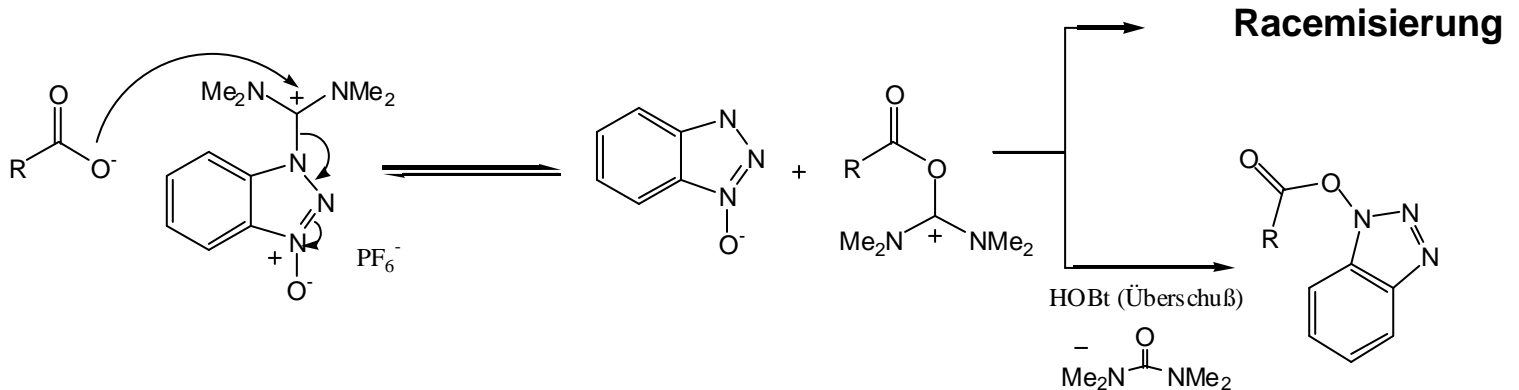


Peptidsynthese – Verhinderung der Racematbildung

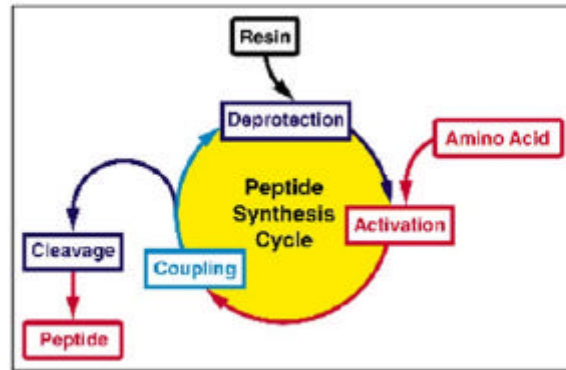
- Zusatz von HOBt, HOObt oder HOSu zu den Aktivierungsreagenzien
 ⇒ Bildung von Aktivestern mit geringer aktivierender Wirkung auf das Carbonyl C-Atom



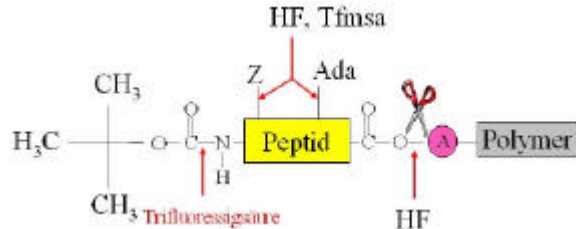
- Aktivierung nach der HBTU/ HOBt/ DIPEA-Methode



Allgemeine Vorgehensweise und Strategien bei der SPPS

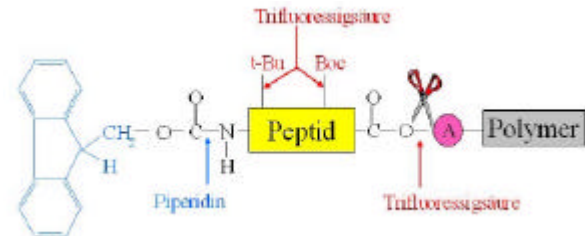


Boc-Strategie



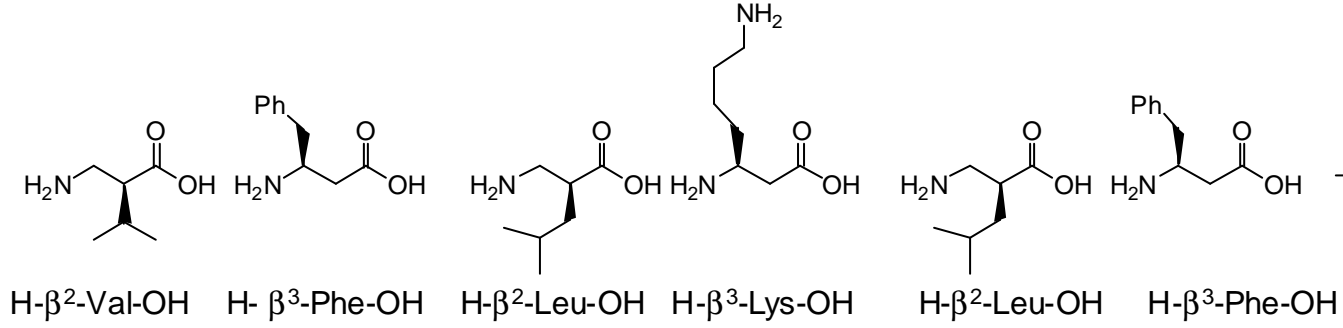
- Entfernung der Boc-Schutzgruppe nach jedem Kupplungsschritt mit Trifluoressigsäure
 - Abspaltung des Peptides und der Seitengruppen mit HF (gasförmig)
- ⇒ Prinzip: Wechsel zwischen verschiedenen Säurestärken
- ⇒ Problem: Verwendung spezieller Geräte

Fmoc-Strategie

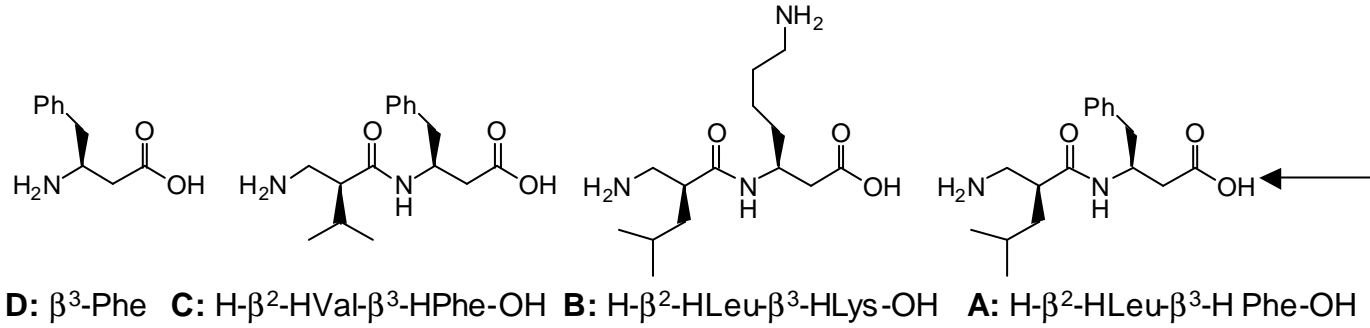


- Entfernung der Fmoc-Schutzgruppe nach jedem Kupplungsschritt mit Piperidin
 - Abspaltung des Peptides und der Seitengruppen mit Trifluoressigsäure
- ⇒ Prinzip: Mehrmaliger Wechsel zwischen saurem und basischen Milieu während der Synthese

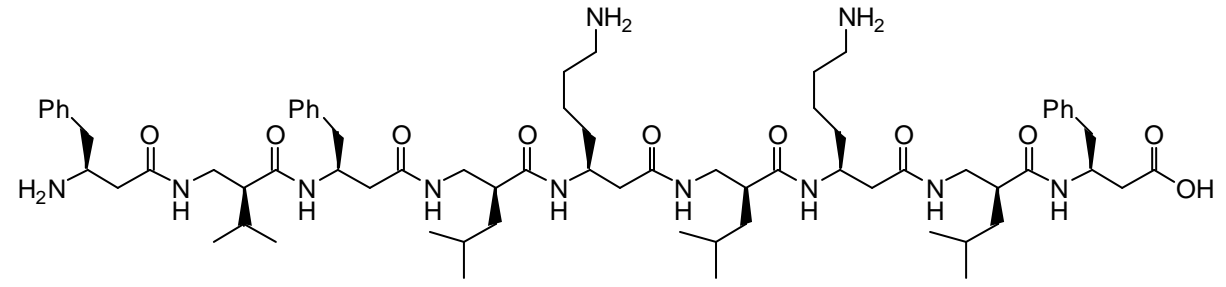
Peptidsynthese – Synthese eines β^2 / β^3 -Peptides



**S
P
S**



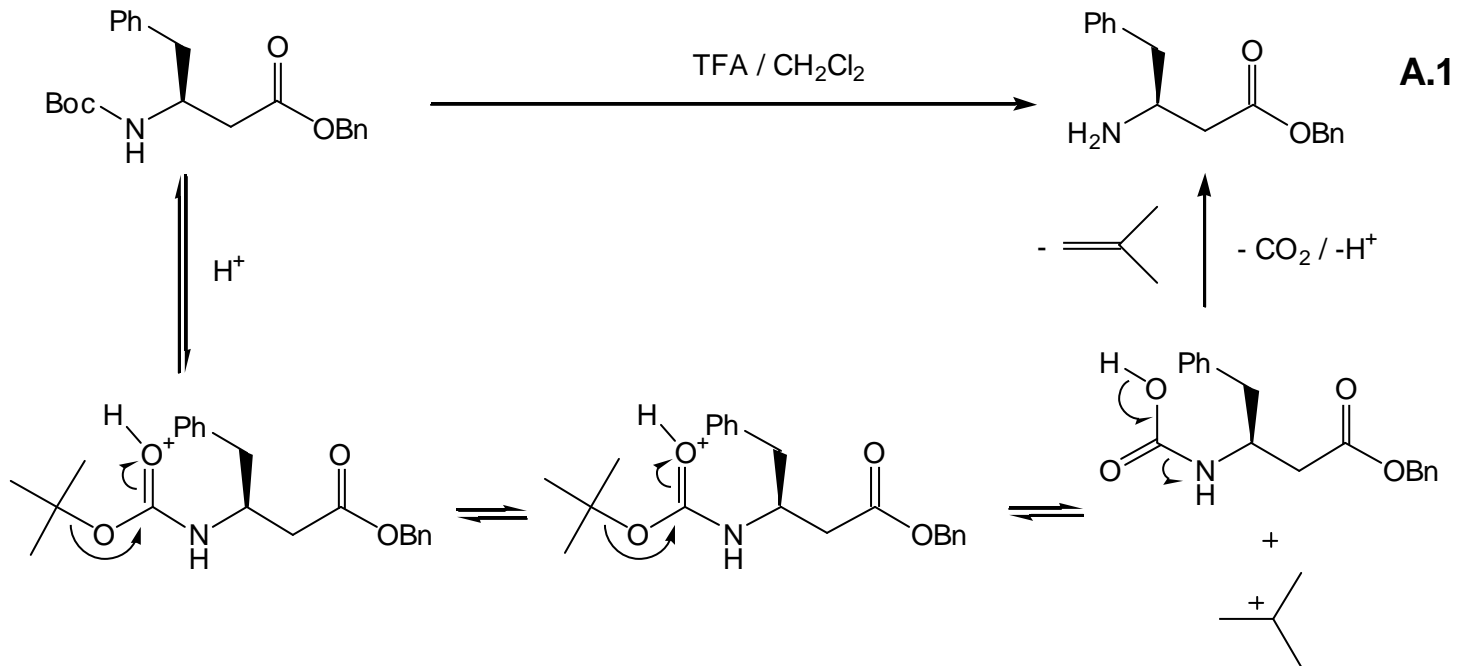
**S
P
S**



All-(S)-H- $\beta^3\text{-HPhe-}\beta^2\text{-HVal-}\beta^3\text{-HPhe-}\beta^2\text{-HLeu-}\beta^3\text{-HLys-}\beta^2\text{-HLeu-}\beta^3\text{-HLys-}\beta^2\text{-HLeu-}\beta^3\text{-HPhe-OH}$

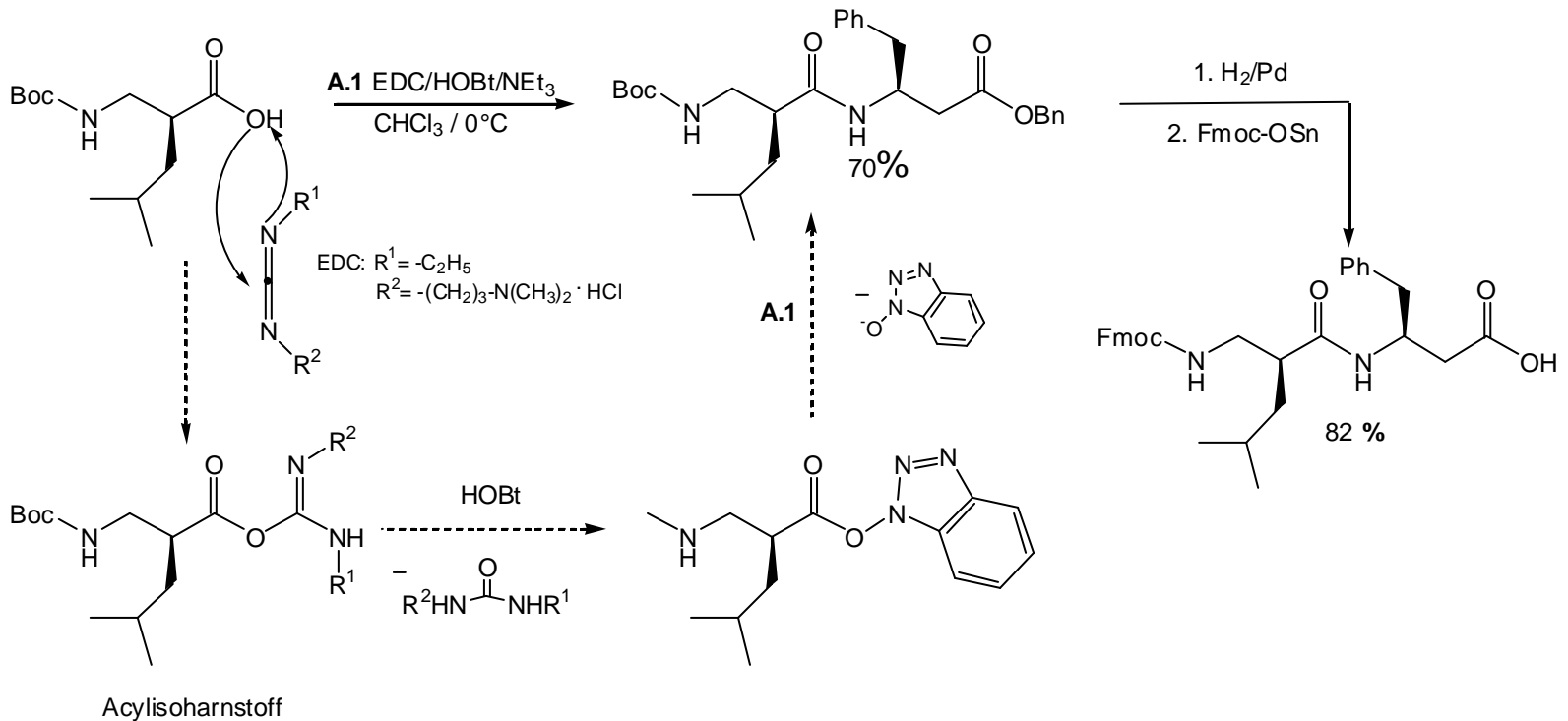
Peptidsynthese – Synthese der Dipeptide A und B (SPS)

1. Entschützen der Aminokomponente



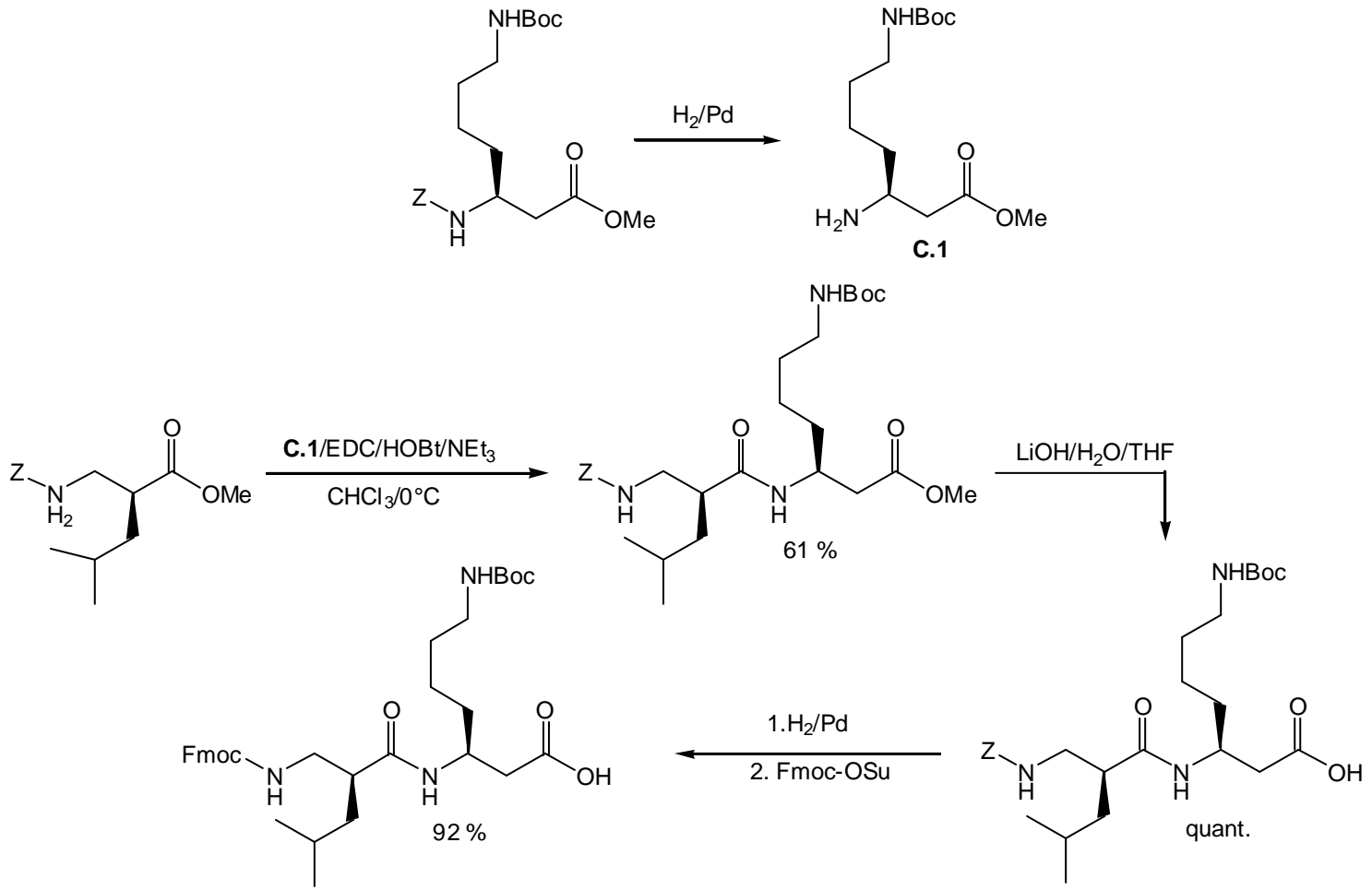
Peptidsynthese – Synthese der Dipeptide A und B (SPS)

2. Aktivierung der Carbonylkomponente und Kupplung

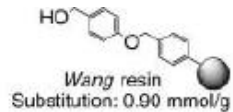


Analog: Bildung des Dipeptides B

Peptidsynthese – Synthese des Dipeptides C (SPS)

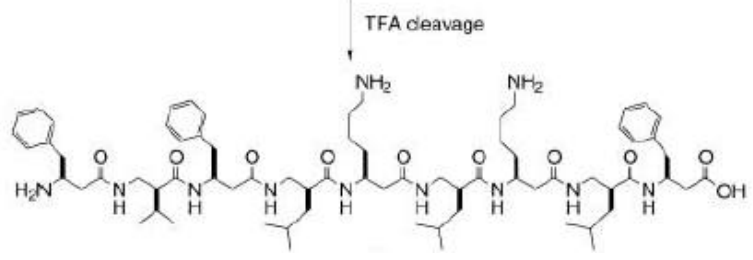
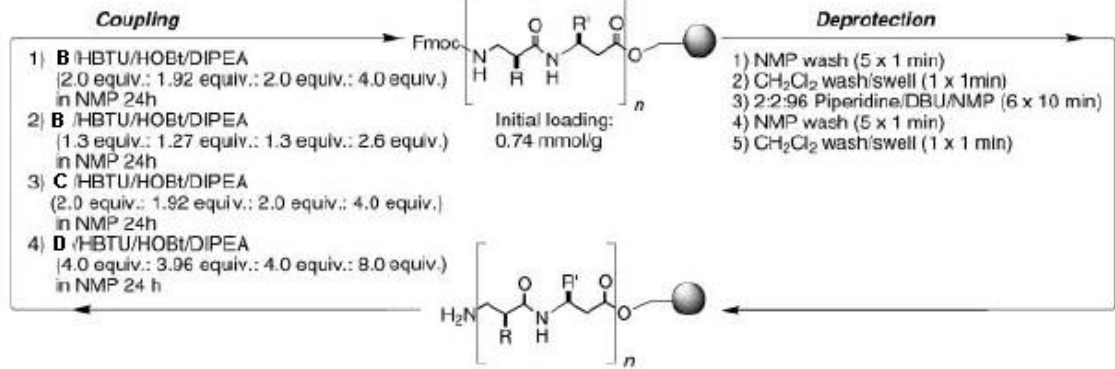


Spezielle Vorgehensweise bei der SPPS des β^2 / β^3 -Peptides



Loading
A /MSNT/MeIm
(3.0 equiv.: 3.0 equiv.: 2.25 equiv.)
in CH_2Cl_2 /DMF 24 h

Capping
 Ac_2O (10 equiv.), DMAP (0.1 equiv.), NMP



Ausbeute: 82%; Reinheit: 95 %

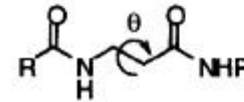
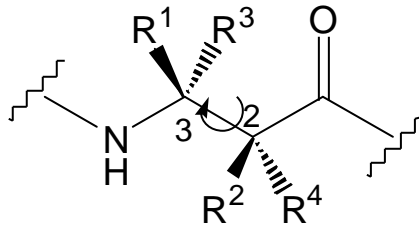
Unterschiede zur Synthese von α -Peptiden:

- Erhöhte Neigung der β -Peptide zur Bildung stabiler sek. Strukturen
- ⇒ Einfluss auf Kupplung-/ Entschützungsreaktionen und Verwendung von Dipeptiden als Kupplungsbausteine

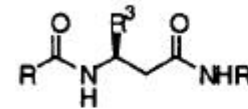
- Aufwendig (zeitlich, finanziell) hergestellte Dipeptide
- ⇒ Verwendung von möglichst geringen Mengen

- Unterschiedliches Racemisierungsverhalten von β^2 / β^3 -Aminosäuren
- ⇒ Verwendung von β^2 / β^3 -Dipeptiden; nicht β^3 -/ β^2 Peptiden

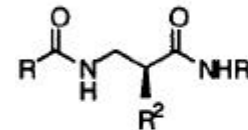
Struktur von β - Peptiden - Substituenteneinfluß



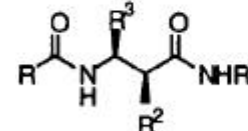
Unsubstituted residue:
conformationally flexible



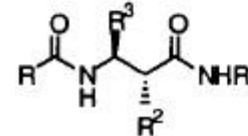
β^3 -Residue:
favors gauche conformation



β^2 -Residue:
favors gauche conformation

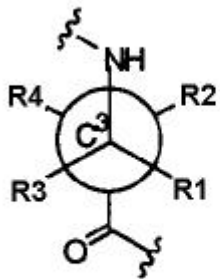


$\beta^{2,3}$ -Residue anti configuration:
strongly favors gauche conformation

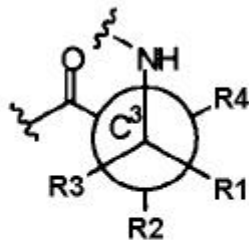


$\beta^{2,3}$ -Residue syn configuration:
strongly favors trans conformation

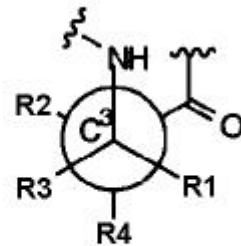
trans (anti)



gauche



gauche



all-(S)-Konfiguration \Rightarrow linksgängige Helix (C-Terminus \rightarrow N-Terminus)
all-(R)-Konfiguration \Rightarrow rechtsgängige Helix (C-Terminus \rightarrow N-Terminus)

Struktur von β - Peptiden - Helices

characteristic	14-helix ¹⁰	12-helix ⁸⁴	α -helix ¹⁰⁵
radius (Å)	2.7	2.3	2.2
residues/turn	3.0	2.5	3.6
rise/residue (Å)	1.56	2.1	1.5

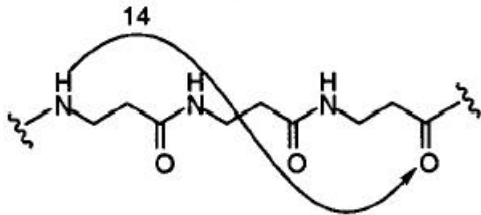
α -Helix
poly-Ala

14-Helix
poly- β^3 -hAla

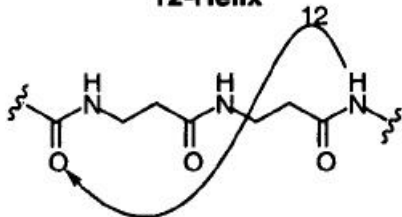
12-Helix
poly- β^3 -hAla

10/12-Helix
poly-(β^3 -hAla- β^2 -hAla)

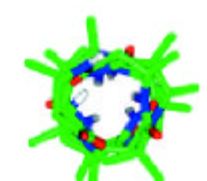
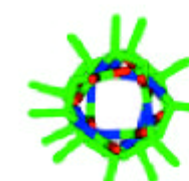
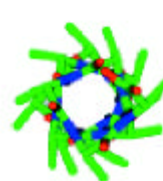
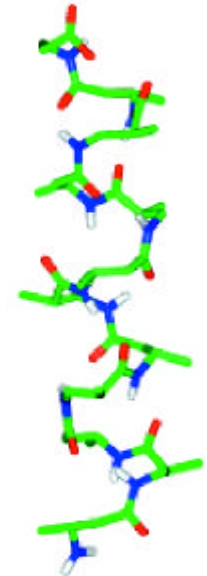
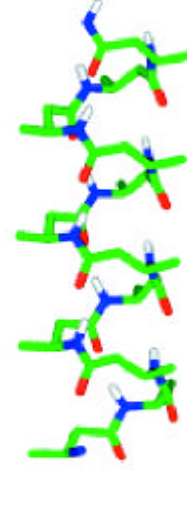
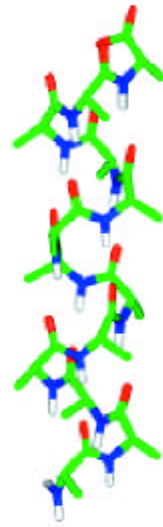
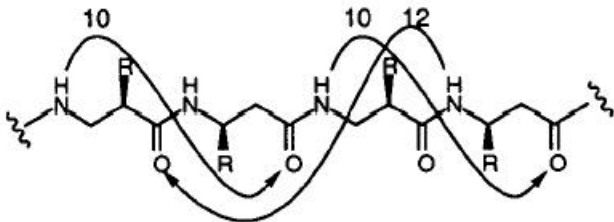
14-Helix



12-Helix



10/12-Helix



Anwendung von β -Peptiden

- **Synthese von Wirkstoff-Nachahmungen aus β -Peptiden (z.B. Hormone)**
 - ⇒ Übertragung der Stabilität gegenüber protolytischem und enzymatischem Abbau der β -Peptide auf den Wirkstoff
 - ⇒ Veränderung der Verabreichungsform des Wirkstoffs (Tablette statt Spritze)
- **Synthese von antibakteriellen β -Peptiden**

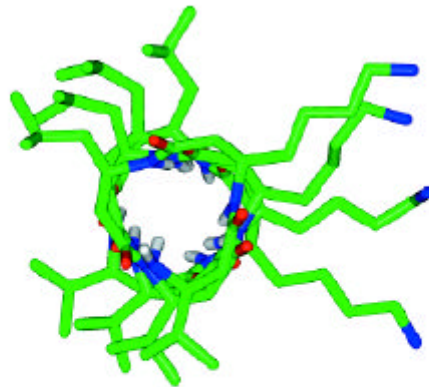
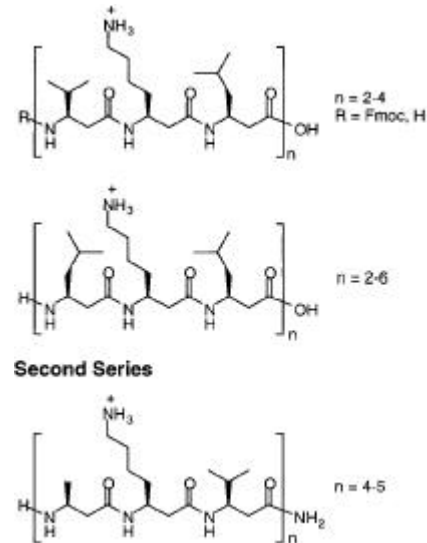


Figure 7. Molecular model of an amphiphilic β -peptide: the hydrogens are omitted for clarity except for the amide hydrogens (white). This view shows the segregation of hydrophobic and positively charged residues on opposite sides of the helix. Carbon atoms are shown in green, nitrogen in blue, and oxygen in red.



Literatur

Artikel:

- Cheng, R.P.; Gellman, S.H.; DeGrado, W.F. *Chem. Rev.* **2001**, 101, 3219–3232
- Arvidsson, P.I.; Franckenpohl, J.; Seebach D.; *Helv. Chim. Ac.*; **2003**; 86, 1522–1553
- Vasanthakumar G.; Basanagoud, P.S.; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2002**, 2087 - 2089
- Seebach, D.; Matthews, J.L.; *Chem. Commun.*, **1997**, 2015 – 2025

Bücher:

- Reaktionsmechanismen; R. Brückner; Spektrum Verlag; 2. Auflage 2003
- Naturstoffchemie; Nuhn P. ;Wissenschaftl. Verlagsgesellschaft; 2. erw. Auflage