

proteinsynthese

Biochemie in der Mikrowelle

Synthesestrategien von Peptoiden

Dr. Sidonie Vollrath und Prof. Dr. Stefan Bräse
Institut für Organische Chemie, Karlsruher Institut für Technologie (KIT)



Die Entwicklung neuer Pharmazeutika beruht auf dem zunehmenden Verständnis intrazellulärer Vorgänge. Insbesondere durch die Erforschung von Ligand-Rezeptor-Wechselwirkungen können Wirkstoffe besser angepasst werden. Um Medikamente an ihren Wirkungsort zu bringen, werden sog. „Carrier“-Moleküle eingesetzt, die die Zellmembran überwinden können.

Diese enthalten vor allem basische Aminosäuren, welche die Überwindung der Zellmembran ermöglichen. Mit diesen Grundlagen wurde versucht, auch Peptide mit kationischen Aminosäuren herzustellen, die ebensolche Eigenschaften haben. Sie werden „Cell Penetrating Peptides“ (CPPs) genannt und wurden bereits vielfältig untersucht [1]. Peptide haben aber für ihre Anwendung als Pharmazeutika auch Nachteile: Sie werden rasch enzymatisch abgebaut, sind schlecht oral verfügbar und zudem wenig stabil in verschiedenen pH-Werten oder Temperaturbereichen. Um dies zu

umgehen, werden Moleküle gebraucht, die die positiven Eigenschaften von Peptiden mit einer verbesserten Bioverfügbarkeit vereinen. Unter diesen so genannten Peptidomimetica gehören Peptoide zu den prominentesten Vertretern. Sie unterscheiden sich von Peptiden darin, dass die Seitenkette formal vom α -Kohlenstoffatom auf das Stickstoffatom verschoben ist (Abb. 1). Peptoide mit basischen Seitenketten können wie CPPs die Zellmembran überwinden, um so bspw. Wirkstoffe in Zellen zu transportieren. Die Zellgängigkeit wird durch die Markierung mit Fluoreszenzfarbstoffen

überprüft, indem die Peptoide in der Zelle über Mikroskopie detektiert werden. Es hat sich gezeigt, dass diese Peptoide neben Farbstoffen auch Metallkomplexe, Nucleinsäuren und Wirkstoffe in Zellen transportieren können.

Synthesestrategien

Ein weiterer Reiz von Peptoiden liegt in der einfachen Synthese, die mit Mikrowellen optimiert werden kann. Wie Peptide werden auch Peptoide meist mittels Festphasensynthese dargestellt, wobei zwei Strategien

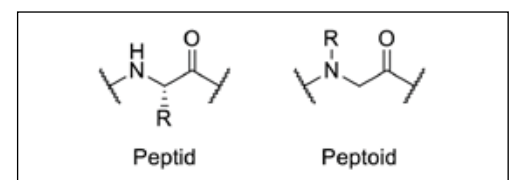


Abb. 1 Struktur von Peptiden (links) und Peptoide (rechts).

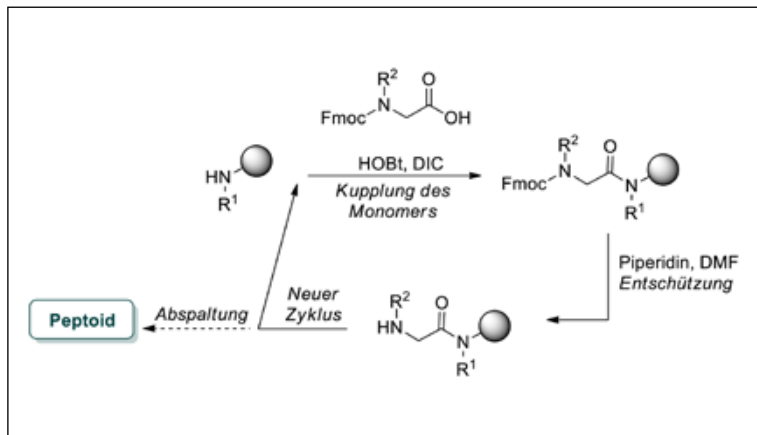


Abb.2 Allgemeine Synthese von Peptiden mit der Monomer-Methode. Fmoc: Fluorenylmethyloxycarbonyl; HOBt: Hydroxybenzotriazol; DIC: Diisopropylcarbodiimid; DMF: Dimethylformamid.

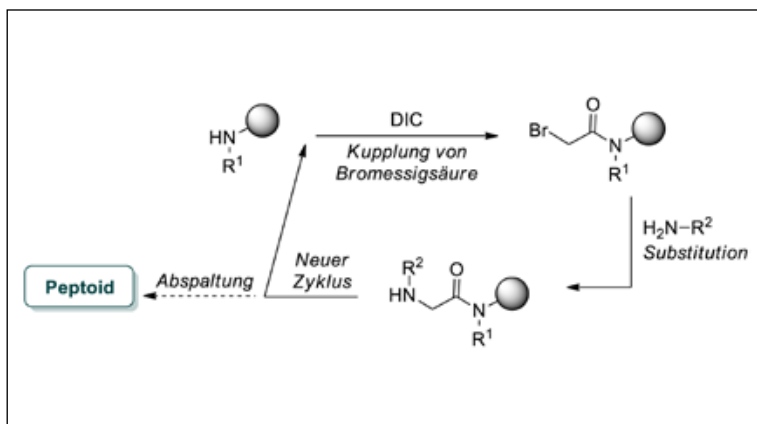


Abb.3 Synthese von Peptiden mit der Submonomer-Methode.

etabliert sind: Die erste (Monomermethode) kann analog zur klassischen Peptidsynthese durchgeführt werden (Abb. 2). In sich wiederholenden Schritten werden zuvor synthetisierte *N*-substituierte Glycin-Monomere [2] mithilfe von gängigen Kupplungsreagenzien (HOBt und DIC) an die feste Phase gekuppelt. Wichtig hierbei ist, dass auch bei der Peptidsynthese eine semipermanente Schützung des *N*-Terminus mit bspw. einer Fmoc-Schutzgruppe notwendig ist. Die zweite, neuere Synthesestrategie (Submonomer-Methode) nutzt zwei sich wiederholende Schritte aus, die eine größere Substratpalette erlauben (Abb. 3). Zunächst wird Bromessigsäure in einer DIC-vermittelten Kupplung immobilisiert. Anschließend kann in einer Substitution das Bromid durch ein nahezu beliebiges primäres Amin ausgetauscht werden. Dies zeigt bereits den Vorteil dieser Strategie: Primäre Amine sind häufig kommerziell erhältlich, wodurch sich eine enorme strukturelle Vielfalt ergibt [3]. Zudem entfällt eine Schützung des *N*-Terminus.

Klassisch werden alle Reaktionen bei Raumtemperatur durchgeführt, in vielen Fällen hat sich aber auch die mikrowellenunterstützte Synthese bewährt, welche die benötigten Reaktionszeiten deutlich herabsetzt, was u.a. Blackwell und Kodadek zeigen konnten [4, 5]. Für die Darstellung von Peptiden, die als zellgängige Verbindungen untersucht werden können, hat sich die mikrowellenunterstützte Monomersynthese bewährt, bei der die einzel-

Stain it!

DNA-Dye NonTox

- unkompliziert –
- unschädlich – sensitiv!
- nicht mutagen
- kein Entsorgungsaufwand
- keine Beeinträchtigung der DNA-Struktur
- höhere Transformationsraten nach Gelextraktion
- strahlende Fluoreszenz – aber sicher!
- sensitiv wie Ethidiumbromid – aber besser!



AppliChem
BioChemicals | Chemical Synthesis Services
an ITW company



There is another top address in Darmstadt:

AppliChem GmbH Phone +49 6151 93 57-0 service@de.applichem.com www.applichem.com

proteinsynthese



Sidonie Vollrath, geb. 1984, studierte Chemie in Karlsruhe und promovierte 2012 am KIT in der Gruppe von Prof. S. Bräse. Während des Studiums und der Promotion absolvierte sie Forschungsaufenthalte an der University of Wisconsin in Madison bei Prof. H. Blackwell sowie an der New York University in der Arbeitsgruppe von Prof. K. Kirshenbaum. Ihr Promotionsthema umfasste die Synthese und strukturelle Untersuchung von Peptoiden und Peptoid-Macrocyclen.



Stefan Bräse, geb. 1967, studierte Chemie in Göttingen und promovierte dort 1995 an der Universität. Nach Postdoktoraten in Uppsala/S und La Jolla/USA begann er an der RWTH Aachen mit seinen eigenständigen Arbeiten (Habilitation in organischer Chemie 2001) und wechselte 2001 als Professor nach Bonn. Seit 2003 ist er Lehrstuhlinhaber am KIT und dort seit 2012 auch Direktor am Institut für Toxikologie und Genetik. Seine Forschungsgebiete reichen von Naturstoffsynthese, kombinatorische Chemie und Drug Delivery bis hin zu Materialchemie. Er koordiniert u. a. das Inter-Reg ChiraNet und die Heidelberg-Karlsruhe Allianz HEiKA.

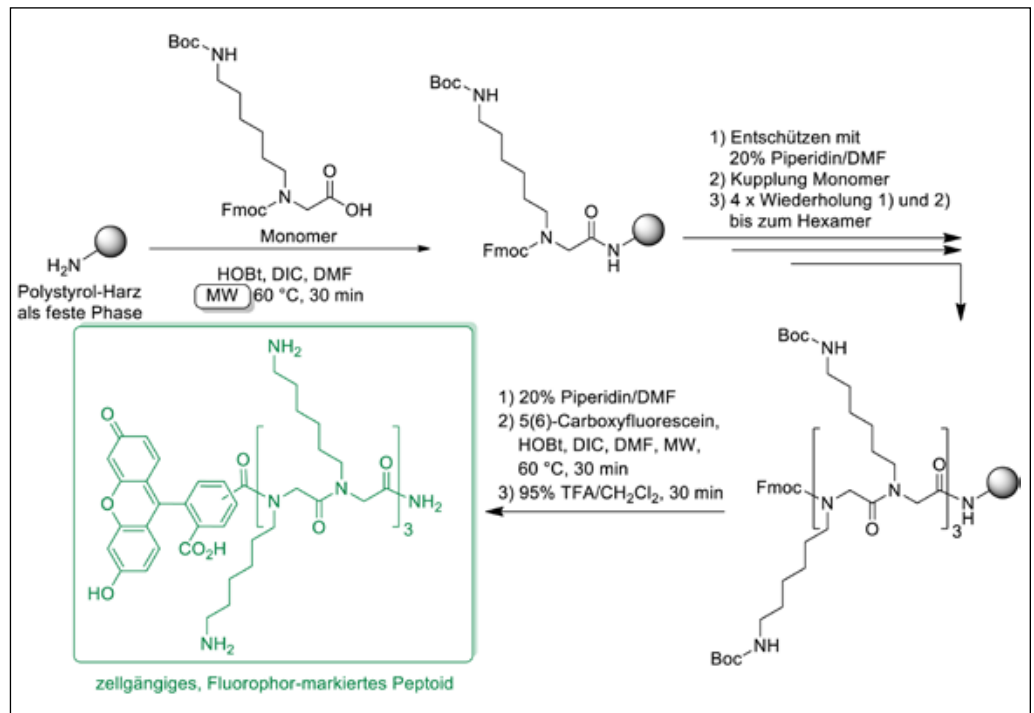


Abb. 3 Synthese von zellgängigen Peptoiden mittels mikrowellenunterstützter Synthese. MW: Mikrowelle; TFA: Trifluoressigsäure.

Tab. Vergleich beider Synthesemethoden, die mittels Mikrowellen durchgeführt werden können.

Monomermethode	Submonomer-Methode
aufwändigere Synthese der Monomere notwendig.	Schnelle und einfache Synthese der Submonomere.
Reaktionszeit in der Mikrowelle (30 min) bei 60 °C.	Kurze Reaktionszeit in der Mikrowelle (insgesamt 16.5 min).
Verbrauch an Monomer: 3.00 Äquivalente pro Kupplungsschritt.	Verbrauch an Submonomer: 7.90 Äquivalente pro Kupplungsschritt.

nen Kupplungsschritte bei 60 °C in lediglich 30 min durchgeführt werden. Auch die abschließende Markierung mit einem geeigneten Fluoreszenzfarbstoff erfolgt bequem in der Mikrowelle (Abb. 3). Sofern eine größere Varianz an Seitenketten gewünscht ist, bietet sich hingegen eine Synthese über die Submonomer-Methode an. Auch hier ist es möglich, die Synthese mikrowellenunterstützt zu führen und so eine deutliche Verbesserung der Reaktionszeiten zu erreichen. Die Acylierung mit Bromessigsäure kann dabei in nur 90s bei 35 °C durchgeführt werden und die Substitution in 15 min bei 60 °C (vgl. Schema 2). Je nach Sequenz können beide Methoden genutzt werden, um die wichtige Verbindungsklasse der Peptoide darzustellen. In der Tabelle sind noch einmal beide Synthesemöglichkeiten einander gegenübergestellt.

Durch die Flexibilität der Routen, aber auch durch die Vereinfachung der mikrowellengestützten Synthese erschließt sich

so eine nahezu universelle Strategie für eine Vielzahl verschiedenster Vertreter dieser immer wichtiger werdenden Substanzklasse [6, 7]. Neue Anwendungen zeigen, dass neue Materialien auf Peptoidbasis zugänglich sind [8].

→ sidonie.vollrath@kit.edu
→ stefan.braese@kit.edu

Literatur

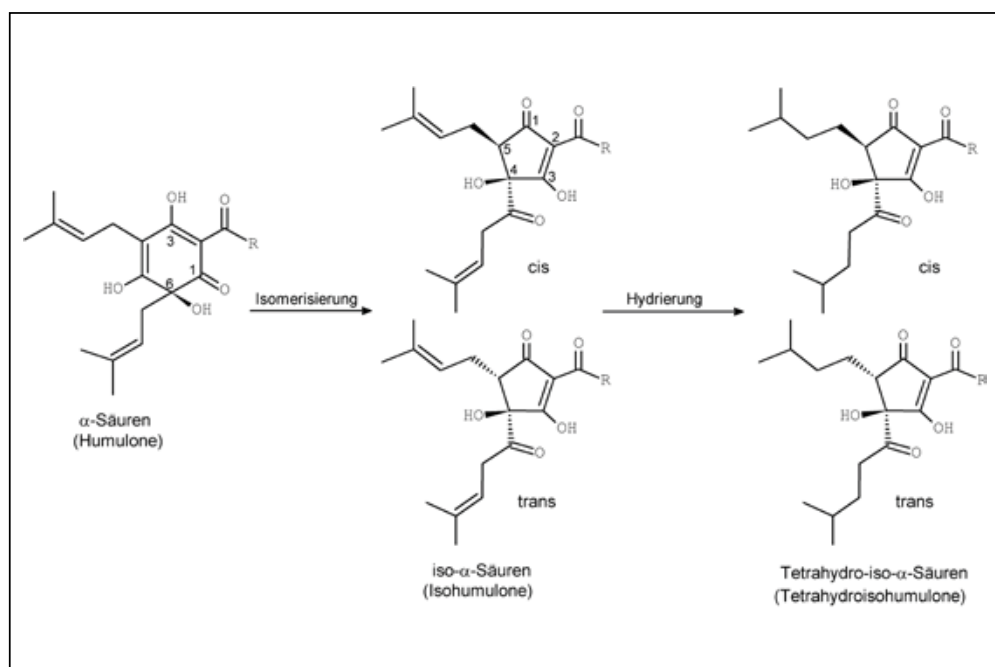
- [1] E. L. Snyder, S. F. Dowdy (2004), *Pharm. Res.* 21, 389–393
- [2] J. A. W. Kruijtzter, L. J. F. Hofmeyer, W. Heerma, C. Verluis, R. M. J. Liskamp (1998), *Chem. Eur. J.* 4, 1570–1580
- [3] R. N. Zuckermann, J. M. Kerr, S. B. H. Kent, W. H. Moos (1992), *J. Am. Chem. Soc.* 114, 10646–10647
- [4] B. C. Gorske, S. A. Jewell, E. J. Guerard, H. E. Blackwell (2005), *Org. Lett.* 7, 1521–1524
- [5] H. J. Olivos, P. G. Alluri, M. M. Reddy, D. Salony, T. Kodadek (2002), *Org. Lett.* 4, 4057–4059
- [6] T. Schröder, N. Niemeier, S. Afonin, A. S. Ulrich, H. F. Krug, S. Bräse (2008), *J. Med. Chem.* 51, 376–379
- [7] B. Rudat, E. Birtalan, S. B. L. Vollrath, D. Fritz, D. K. Kölmel, M. Nieger, U. Schepers, K. Müllen, H.-J. Eisler, U. Lemmer, S. Bräse (2011), *Eur. J. Med. Chem.* 46, 4457–446
- [8] S. B. L. Vollrath, C. Hu, S. Bräse, K. Kirshenbaum (2013), *Chem. Commun.* 49, 2317–2319

Humulone und Bier

Humulone, die Inhaltsstoffe des Hopfens, geben dem Bier seinen typischen bitteren Geschmack und fungieren aufgrund ihrer bakteriostatischen Eigenschaften als natürliches Konservierungsmittel. Beim Brauvorgang bilden sich in Umlagerungsreaktionen sog. iso- α -Säuren. Sie zersetzen sich leicht und deswegen wurden Hopfenextrakte mit den stabileren Tetrahydro-iso- α -säuren entwickelt. Die Substanzen werden getrennt hergestellt und dem Bier zugegeben, um einen konstanten Geschmack zu erzielen.

Die Arbeitsgruppe von W. Kaminsky (Uni Washington) bestimmten durch X-Ray-Analyse die absoluten Konfigurationen der Substanzen und fanden widersprüchliche Ergebnisse im Vergleich zu Literaturangaben, die seit den 1970er-Jahren kursieren und mit indirekten Methoden (Cotton-Effekt, Horeau-Verfahren) ermittelt wurden. Die Erwähnung dieser Befunde wäre wohl kaum von größerer Bedeutung, würden nicht seit Jahren den Bitterstoffen positive Effekte bei Diabetes, einigen Formen von Krebs und bei Entzündungen nachgesagt. Einige iso- α -Säuren sollen sogar zur Gewichtsreduktion beitragen.

Manche Derivate beeinflussen ein Krankheitsbild, während andere, die sich in der Konfiguration der C-Atome 4 und 5 unter-



Die Strukturen der Bitterstoffe des Hopfens. Humulone: R = $-\text{CH}_2\text{-CH}(\text{CH}_3)_2$; Cohumulone: R = $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$; Adhumulone: R = $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-CH}_2\text{-CH}_3$; Posthumulon: R = $-\text{CH}_2\text{-CH}_3$; Prähumulon: R = $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}(\text{CH}_3)_2$

scheiden, nicht wirksam sind. Es wurde auch festgestellt, dass der Bitterkeitsgrad mit der entgegengesetzten Konfiguration der Tetrahydro-iso- α -säuren korreliert werden kann.

Exzessiver Bierkonsum kann natürlich nicht für ein gesundes Leben empfohlen werden. Mit den korrekten stereochemischen

Daten können nun aber die beschriebenen gesundheitlichen positiven Effekte neu und fundiert überprüft werden.

→ GS

Originalveröffentlichung: W. Kaminsky et al. (2013)
Angew. Chem., 125, 1593–1595

Fotos: w

Automated Sample Preparation
The possibilities are endless -
the limit is your imagination!

CHROMTECH

PAL RTC

Fragen Sie uns nach Lösungen
für Ihre analytischen
Fragestellungen!

Nähere Infos unter:
06126-1686 oder
info@chromtech.de