

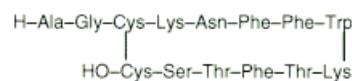
Synthese und biologische Evaluation eines Cyclo- β -tetrapeptids als Somatostatin-Analogon

Karl Gademann, Martin Ernst, Daniel Hoyer und Dieter Seebach*

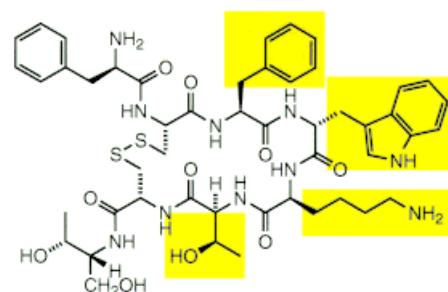
Kurze β -Peptide (Oligomere von β -Aminosäuren) können im Gegensatz zu kurzen α -Peptiden in Lösung und im Festkörper eine Vielzahl von wohldefinierten Sekundärstrukturen bilden.^[1] So werden die drei Hauptstrukturelemente der Proteine (Helices, Faltblätter und Schleifen) bereits bei β -Hexapeptiden in Lösung gefunden.^[2] Cyclische β -Peptide liegen im Festkörper als röhrenartige Strukturen mit einem dichten Netz an Faltblatt-Wasserstoffbrückenbindungen vor („Nanoröhren“).^[3] Der zweite fundamentale Unterschied zwischen natürlichen Peptiden und β -Peptiden ist die ausserordentliche Stabilität letzterer gegenüber dem Abbau durch Proteasen und Peptidasen, einschliesslich der aggressivsten wie Pronase und Proteinase K.^[4]

Die enzymatische Stabilität und die Vielzahl an Sekundärstrukturen machen β -Peptide zu interessanten Kandidaten für den Einsatz als Peptidmimetica in der medizinischen Chemie. Der leichte Zugang zu β -Aminosäuren (in zwei Schritten aus den entsprechenden α -Aminosäuren)^[5] und zu β -Peptiden (auch durch Festphasensynthese)^[6] ermöglicht die rasche Herstellung vieler Derivate mit kombinatorischen Methoden. Obwohl β -Aminosäuren schon länger in pharmakologisch aktive Verbindungen eingebaut werden^[7] und erst kürzlich über die Synthese von Konjugaten aus α - und β -Peptiden als MHC-Klasse-I-Protein-bindende Peptide berichtet wurde,^[8] ist bisher über das Potential von reinen β -Peptiden als biologisch aktive Verbindungen nichts bekannt, d.h., die Frage, ob natürliche Peptidhormone durch β -Peptide imitiert werden können, ist noch unbeantwortet.

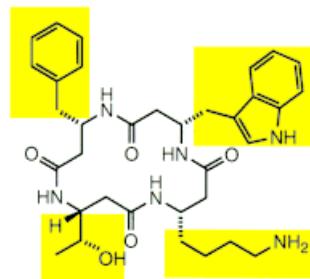
Als Zielverbindung, um eine Antwort auf diese Frage zu finden, wählten wir das Peptidhormon Somatostatin (SRIF₁₄ **1**), welches 1973 von Guillemain et al. aus 500000 Schafshypothalamen isoliert wurde und mehrere wichtige biologische Funktionen hat; es regelt unter anderem die Ausschüttung von Wachstumshormonen und den Insulinhaushalt.^[9] Octreotid (SANDOSTATIN **2**), ein vom Tetradecapeptid Somatostatin abgeleitetes cyclisches α -Octapeptid mit einer höheren Aktivität und Bioverfügbarkeit, wird zur Behandlung der Akromegalie und gewisser Darm-Tumore eingesetzt. Die Halbwertszeit der Eliminierung ist jedoch mit ein bis zwei Stunden immer noch sehr kurz, und deshalb ist es erstrebenswert, nicht- α -peptidische Derivate mit höherer Bioverfügbarkeit herzustellen. Die biologisch aktive Konformation von Octreotid **2**, eine β -Schleife, konnte



1



2



3

aus Struktur-Aktivitäts-Beziehungen abgeleitet werden, wobei die Aminosäuren in der Schleife (Phe-Trp-Lys-Thr) für die Aktivität notwendig sind.^[10] In der durch Pulver-Röntgenstrukturanalyse ermittelten Struktur eines cyclischen all-(S)- β -Tetrapeptids^[3a] wurden die Seitenketten durch die Seitenketten von Phe, Trp, Lys und Thr ersetzt. Das resultierende Modell (Abbildung 1, grün) ergab in der Superposition

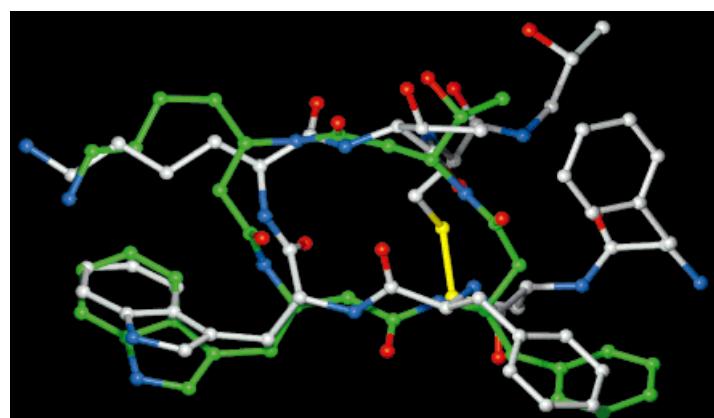


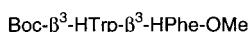
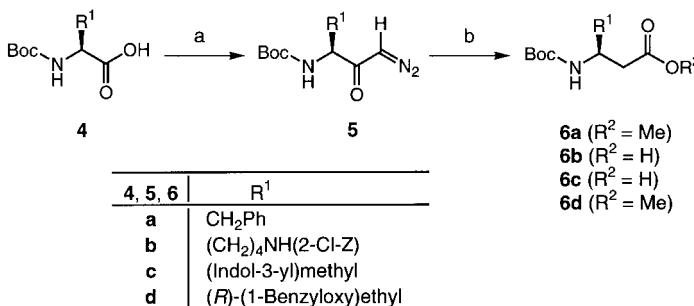
Abbildung 1. Aufsicht auf die Superposition der Struktur von Octreotid **2** in Lösung (C-Atome in grau)^[1a] und einem aus der Struktur von cyclo-(S)-(β-HAla)^[3a] im Festkörper abgeleiteten Modell des Somatostatin-Analogen **3** (C-Atome in grün). Die relative Lage der Seitenketten von **3** und **2** ist ähnlich, was als Voraussetzung für hohe Affinität angesehen wird.

mit der Struktur von Octreotid **2** in Lösung^[11] (Abbildung 1, grau) eine gute räumliche Übereinstimmung der Seitenketten, was als notwendig für die biologische Aktivität erachtet wird. Wir wählten daher das cyclische β -Tetrapeptid **3** als Analogon für Octreotid **2**.

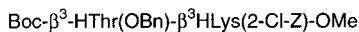
Die β -Aminosäure-Bausteine **6** wurden aus den entsprechenden *N*-Boc- α -Aminosäuren **4** durch die Arndt-Eistert-

[*] Prof. Dr. D. Seebach, Dipl.-Chem. K. Gademann, Dipl.-Ing. M. Ernst
Laboratorium für Organische Chemie der
Eidgenössischen Technischen Hochschule Zürich
Universitätstrasse 16, ETH-Zentrum, CH-8092 Zürich (Schweiz)
Fax: (+41) 1-6321144
E-mail: seebach@org.chem.ethz.ch
Dr. D. Hoyer
Nervous System Research, S-386-745
Novartis Pharma AG
CH-4002 Basel (Schweiz)

Reaktion über die Diazoketone **5** und die Wolff-Umlagerung hergestellt (Schema 1). Für die Peptidsynthese in Lösung wurde die übliche Boc/Benzyl-Schutzgruppenstrategie gewählt. Boc-Entschützung des β -Aminosäureesters **6a** und Kupplung mit **6c** lieferte das Dipeptid **7**, Veresterung und



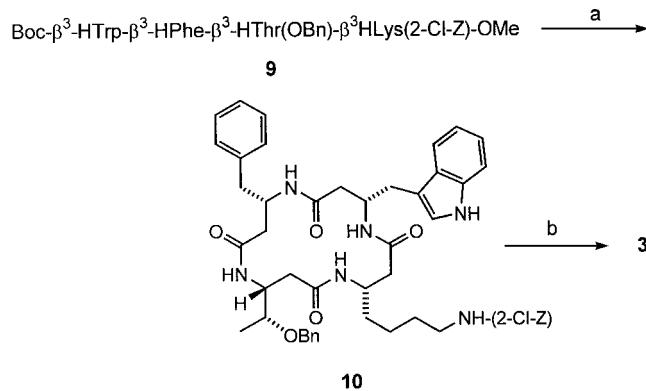
7



8

Schema 1. Herstellung der β^3 -HPhe-, β^3 -HLys-, β^3 -HTrp- und β^3 -HThr-Derivate **6a–d** sowie die Formeln der Dipeptide **7** und **8**. a) ClCO_2Et , Et_3N , THF, danach CH_2N_2 , Et_2O ; **5a**: 53 %, **5b**: 50 %, **5c**: 59 %, **5d**: 69 %; b) $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{Ag}$ (kat.), Et_3N , THF, R^2OH ; **6a**: 94 %, **6b**: 89 %, **6c**: 89 %, **6d**: 88 %. Bn = Benzyl; Boc = *tert*-Butoxycarbonyl; Z = Benzyloxycarbonyl.

Boc-Entschützung von **6b** und Kupplung mit **6d** das Dipeptid **8**; **7** wurde C-terminal (NaOH -Lösung) und **8** N-terminal ($\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$) entschützt, und die beiden teiltentschützten Fragmente wurden in 93 % Ausbeute zum Tetrapeptid **9** gekuppelt. Dieses wurde C-terminal entschützt und mit Pentafluorophenol zum Aktivester umgesetzt, der, nach Boc-Entschützung, mit der Hünig-Base in CH_3CN zum β -Tetrapeptid **10** cyclisiert wurde, welches in allen in der Peptidchemie üblichen Lösungsmitteln unlöslich ist (Schema 2).^[12] Wir waren deshalb gezwungen, eine neue Methode für die Hydrogenolyse der Benzyl- und 2-Cl-Z-Schutzgruppen zu



Schema 2. Der β -Tetrapeptidvorläufer **9**, seine Cyclisierung zu **10** und die Entschützung zu **3**. a) 1) 50 Äquiv. NaOH , H_2O , DMF, 45°C ; 92 %; 2) $\text{C}_6\text{F}_5\text{OH}$, 1-[3-(Dimethylamino)propyl]-3-ethylcarbodiimid-hydrochlorid, DMF/ CH_3Cl ; quantitativ; 3) $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$, CH_2Cl_2 , Ethandithiol; quantitativ; 4) $i\text{PrNEt}_2$, CH_3CN , 70°C , Spritzenpumpe; 48 %; b) Pd/C , H_2 , LiCl , THF , MeOH , 48h; 9 %.^[14]

suchen: Peptide können durch LiCl in organischen Lösungsmitteln wie THF solubilisiert werden,^[13] aber unseres Wissens war noch nie eine Hydrogenolyse in diesem Medium durchgeführt worden. Es zeigte sich, dass der Cyclus **10** in THF durch Zugabe von sechs Äquivalenten LiCl in Lösung gebracht und anschliessend, wenn auch in schlechter Ausbeute,^[14] hydrogenolytisch entschützt werden konnte. Reinigung durch Umkehrphasen-HPL-Chromatographie ergab **3**.

Die Affinität des Cyclo- β -tetrapeptids **3** zu fünf menschlichen Somatostatin-Rezeptoren (hsst 1–5, exprimiert in CHO- oder CCL-39-Zell-Linien) wurde mit Radioligand-Bindungsstudien bestimmt. Die Verdrängung von an fünf verschiedene menschliche Somatostatin-Rezeptoren spezifisch gebundenem [^{125}I]LTT-SRIF₂₈ wurde wie in der Literatur beschrieben^[15] durchgeführt, und die Affinitätswerte sind als $\text{p}K_d \pm \text{SEM}$ angegeben. Die in Tabelle 1 zusammengefassten

Tabelle 1. Vergleich der Affinitäten von **3** und **2** zu menschlichen Somatostatin-Rezeptoren (hsst 1–5, exprimiert in zwei verschiedenen Zell-Linien) durch Radioligand-Bindungsstudien (Verdrängung von spezifisch gebundenem [^{125}I]LTT-SRIF₂₈). Die Werte sind als $\text{p}K_d \pm \text{SEM}$ (SEM = Standardabweichung) angegeben. Die Affinität von **3** liegt im Mikromol-Bereich, d. h., sie ist mindestens eine Größenordnung geringer als die von **2**.^[a]

Rezeptor	β -Peptid 3	Octreotid 2
hsst 1 CCL39	4.85 ± 0.04	6.65
hsst 2 CCL39	4.44 ± 0.09	9.19
hsst 3 CHO	5.48 ± 0.01	7.88
hsst 4 CCL39	5.00 ± 0.05	6.40
hsst 5 CCL39	3.73 ± 0.15	7.17

[a] CCL39 = Lungenfibroblasten chinesischer Hamster, CHO = Eierstöcke chinesischer Hamster, hsst = Subtyp des menschlichen Somatostatin-Rezeptors, SRIF = die Somatotropin-Freisetzung inhibierender Faktor.

Daten zeigen klar, dass **3** Affinität zu den verschiedenen Rezeptoren aufweist, wobei die zur Verdrängung notwendige Konzentration im Mikromol-Bereich und nicht wie bei **1** und **2** im Nanomol-Bereich liegt (die Affinität ist um den Faktor 10 (bei hsst 4) bis 10^5 (bei hsst 2) geringer). Mit einem Glucosederivat als Somatostatin-Mimeticum wurden vergleichbare Affinitäten im Mikromol-Bereich beobachtet.^[16]

Mit dieser Arbeit ist zum ersten Mal gezeigt, dass ein kleines β -Peptid (aus nur vier β -Aminosäuren) ein natürliches Peptidhormon imitieren und biologische Aktivität aufweisen kann. Es sollte daher möglich sein, β -Peptide generell als Peptidmimetica einzusetzen, mit dem Vorteil, dass sie wegen ihrer Stabilität gegen Peptidasen vielleicht auch bei oraler Applikation bioverfügbar sind (entsprechende Versuche mit **3** sind im Gange). Es scheint zudem möglich, kurze β -Peptide mit ihren kompakten, wohldefinierten Sekundärstrukturen als metabolisch stabile Vakzine einzusetzen, die durch körpereigene Rezeptoren und das Immunsystem erkannt werden.

Eingegangen am 1. Dezember 1998 [Z 12733]
International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1223–1226

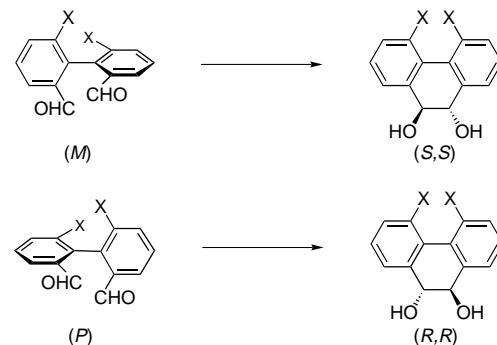
Stichwörter: Hormone • β -Peptide • Peptidmimetika • Somatostatin

- [1] Übersicht: D. Seebach, J. L. Matthews, *Chem. Commun.* **1997**, 2015–2022.
- [2] a) D. Seebach, M. Overhand, F. N. M. Kühnle, B. Martinoni, L. Oberer, U. Hommel, H. Widmer, *Helv. Chim. Acta* **1996**, 79, 913–941; b) D. Seebach, S. Abele, K. Gademann, G. Guichard, T. Hintermann, B. Jaun, J. L. Matthews, J. V. Schreiber, L. Oberer, U. Hommel, H. Widmer, *Helv. Chim. Acta* **1998**, 81, 932–982; c) S. H. Gellman, *Acc. Chem. Res.* **1998**, 31, 173–180; d) U. Diederichsen, H. W. Schmitt, *Angew. Chem.* **1998**, 110, 312–315; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 302–305; e) Y. J. Chung, L. A. Christianson, H. E. Stanger, D. R. Powell, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 10555–10556; f) D. Seebach, S. Abele, K. Gademann, B. Jaun, *Angew. Chem.* **1999**, 111, Nr. 11; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, Nr. 11.
- [3] a) D. Seebach, J. L. Matthews, A. Meden, T. Wessel, C. Baerlocher, L. B. McCusker, *Helv. Chim. Acta* **1997**, 80, 173–182; b) T. D. Clark, L. K. Buehler, M. R. Ghadiri, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 651–565; c) J. L. Matthews, K. Gademann, B. Jaun, D. Seebach, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1998**, 3331–3340.
- [4] a) T. Hintermann, D. Seebach, *Chimia* **1997**, 50, 244–247; b) D. Seebach, S. Abele, J. Schreiber, B. Martinoni, A. K. Nussbaum, H. Schild, H. Schulz, H. Hennecke, R. Woessner, F. Bitsch, *Chimia* **1998**, 52, 734–739.
- [5] J. L. Matthews, C. Braun, C. Guibourdenche, M. Overhand, D. Seebach in *Enantioselective Synthesis of β -Amino Acids* (Hrsg.: E. Juaristi), Wiley, New York, **1996**, S. 105–126.
- [6] G. Guichard, S. Abele, D. Seebach, *Helv. Chim. Acta* **1998**, 81, 187–206.
- [7] Für einige ausgewählte Beispiele siehe: a) A. Müller, F. Schumann, M. Koksch, N. Sewald, *Lett. Pept. Sci.* **1997**, 4, 275–281; b) G. Kottirsch, H.-G. Zerwes, N. S. Cook, C. Tapparelli, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, 6, 727–732; c) Y. Hayashi, J. Katsada, T. Harada, A. Tachiki, K. Iijima, Y. Takuguchi, M. Muramatsu, H. Miyazaki, T. Asari, R. Okazaki, Y. Sato, E. Yasuda, M. Yana, I. Uno, I. Ojima, *J. Med. Chem.* **1998**, 42, 2345–2360; d) T. Yamazaki, A. Pröbstl, P. W. Schiller, M. Goodman, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1991**, 37, 463–381.
- [8] S. Poenaru, J. R. Lamas, G. Folkers, J. A. Lopez de Castro, D. Seebach, D. Rognan, *J. Med. Chem.*, eingereicht.
- [9] P. Brazeau, W. Vale, R. Burgus, N. Ling, M. Butcher, J. Rivier, R. Guillemain, *Science (Washington)* **1973**, 179, 77.
- [10] G. Melacini, Q. Zhu, G. Osapay, M. Goodman, *J. Med. Chem.* **1997**, 40, 2252–2258; C. Scarpignato in *Octreotide: From Basic Science to Clinical Medicine*, Vol. 10 (Hrsg.: C. Scarpignato), Karger, Basel, **1996**, S. 54–72. Sowohl L- als auch D-Trp ergeben aktive Derivate, wobei im zweiten Fall die Aktivität und Stabilität gegenüber einem enzymatischen Abbau höher sind.
- [11] G. Melacini, Q. Zhu, M. Goodman, *Biochemistry* **1997**, 36, 1233–1241.
- [12] **10** bildet laut FT-IR-Spektrum im Festkörper wahrscheinlich ebenfalls Nanoröhren.^[3]
- [13] D. Seebach, A. K. Beck, A. Studer in *Modern Synthetic Methods 1995*, Vol. 7 (Hrsg.: B. Ernst, C. Leumann), VCHA, Basel, **1995**, S. 1–178.
- [14] Nach der Hydrogenolyse und HPLC-Reinigung konnte die Hälfte des vollgeschützten Peptids zurückgewonnen werden.
- [15] a) S. S. Siehler, K. Seuwen, D. Hoyer, *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **1998**, 357, 483–489; b) S. S. Siehler, K. Seuwen, D. Hoyer, *Eur. J. Pharmacol.* **1998**, 348, 311–320.
- [16] R. Hirschmann, K. C. Nicolaou, S. Pietranico, E. M. Leahy, J. Salvino, B. Arison, M. A. Cichy, P. G. Spoors, W. C. Shakespeare, P. A. Sprengeler, P. Hamley, A. B. Smith III, T. Reisine, K. Raynor, L. Maechler, C. Donaldson, W. Vale, R. M. Freidinger, M. R. Cascieri, C. D. Strader, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 12550–12568; R. Hirschmann, J. Hynes, Jr., M. A. Cichy-Knight, R. D. van Rijn, P. A. Sprengeler, P. G. Spoors, W. C. Shakespeare, S. Pietranico-Cole, J. Barbosa, J. Liu, W. Yao, S. Rohrer, A. B. Smith III, *J. Med. Chem.* **1998**, 41, 1382–1391.

**Von axialer zur Zentrochiralität:
Pinakolcyclisierung eines
2,2'-Biarylodicarbaldehyds zum
trans-9,10-Dihydrophenanthren-9,10-diol****

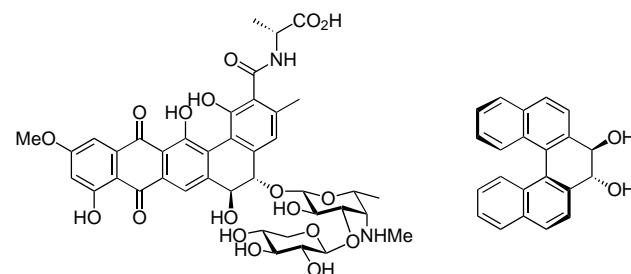
Ken Ohmori, Mitsuru Kitamura und Keisuke Suzuki*
In memoriam Vladimir Prelog

Wir beschreiben hier zwei hervorstechende Eigenschaften der Pinakolcyclisierung von 2,2'-Biarylodicarbaldehyden (Schema 1): 1) die Stereoselektivität, mit der ausschließlich



Schema 1. Übertragung der Chiralität.

das *trans*-Diol gebildet wird, und 2) die Stereospezifität, durch die die axiale Chiralität auf zwei stereogene Zentren des Produkts übertragen wird (sofern das eingesetzte Biphenyl eine stabile Konfiguration hat). Daß dadurch *trans*-9,10-Dihydrophenanthren-9,10-diole zugänglich sind, ist nicht nur für die Synthese von Naturstoffen (z. B. von **1**) von Bedeutung,^[1] sondern auch für die Herstellung neuer Verbindungen wie **2**, die möglicherweise in der asymmetrischen Synthese einsetzbar sind.^[2]



1: Pradimicin A

2

Unser ursprünglicher Versuch konzentrierte sich auf die Reaktion von 2,2'-Biphenyldicarbaldehyd **3**,^[3] der sich durch Behandlung mit SmI_2 ^[4] (2 Äquiv., THF, 0 °C, 5 min) glatt in

[*] Prof. Dr. K. Suzuki, Dr. K. Ohmori, M. Kitamura
Department of Chemistry
Tokyo Institute of Technology
Meguro-ku, Tokyo 152-8551 (Japan)
Fax: (+81) 3-5734-2228
E-mail: ksuzuki@chem.titech.ac.jp

[**] Diese Arbeit wurde vom japanischen Ministerium für Erziehung, Wissenschaft, Kultur und Sport sowie von JSPS (Promotionsstipendium für M.K.) gefördert. Wir danken den Professoren H. B. Kagan (Paris), J. Siegel (San Diego) und F. Matsuda (Hokkaido) für hilfreiche Diskussionen.