

Diss. ETH Nr. 14409

# Synthese und Struktur von $\gamma$ -Peptiden

ABHANDLUNG

zur Erlangung des Titels

Doktor der Naturwissenschaften

der

EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE

ZÜRICH

vorgelegt von

MEINRAD BRENNER

Dipl. Chem. ETH

geboren am 29. März 1971

von Steg (VS)

Angenommen auf Antrag von:

Prof. Dr. Dieter Seebach, Referent

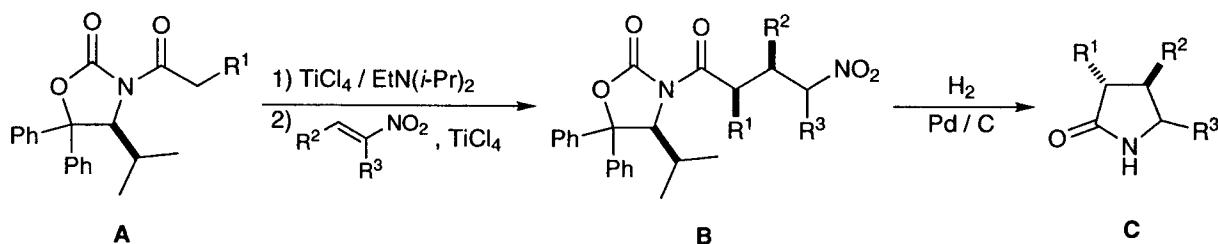
Prof. Dr. Erick M. Carreira, Korreferent

Zürich, 2001

## Zusammenfassung

Oligomere, die stabile Sekundärstrukturen bilden, haben in den letzten Jahren grosses Interesse gefunden. Die Arbeitsgruppe von Professor *Seebach* beschäftigt sich intensiv mit Oligomeren von  $\beta$ -Aminosäuren, den sogenannten  $\beta$ -Peptiden. Verschiedene Sekundärstrukturen wie Helices, Faltblätter und eine Haarnadelschleife wurden gefunden, und aufgrund der gesammelten Erfahrungen ist es nun möglich,  $\beta$ -Peptide mit bestimmten biologischen Eigenschaften zu entwerfen.  $\gamma$ -Peptide haben bislang weniger Aufmerksamkeit erlangt. Neben den von *Schreiber* beschriebenen  $\gamma$ -Peptiden aus  $\alpha,\beta$ -ungesättigten  $\gamma$ -Aminosäuren, den "vinylogous polypeptides", wurde nur über  $\gamma^4$ - und  $\gamma^{2,4}$ -Peptide berichtet. Im Rahmen dieser Dissertation wurden  $\gamma$ -Peptide mit verschiedenen Substitutionsmustern hergestellt und deren Sekundärstruktur untersucht.

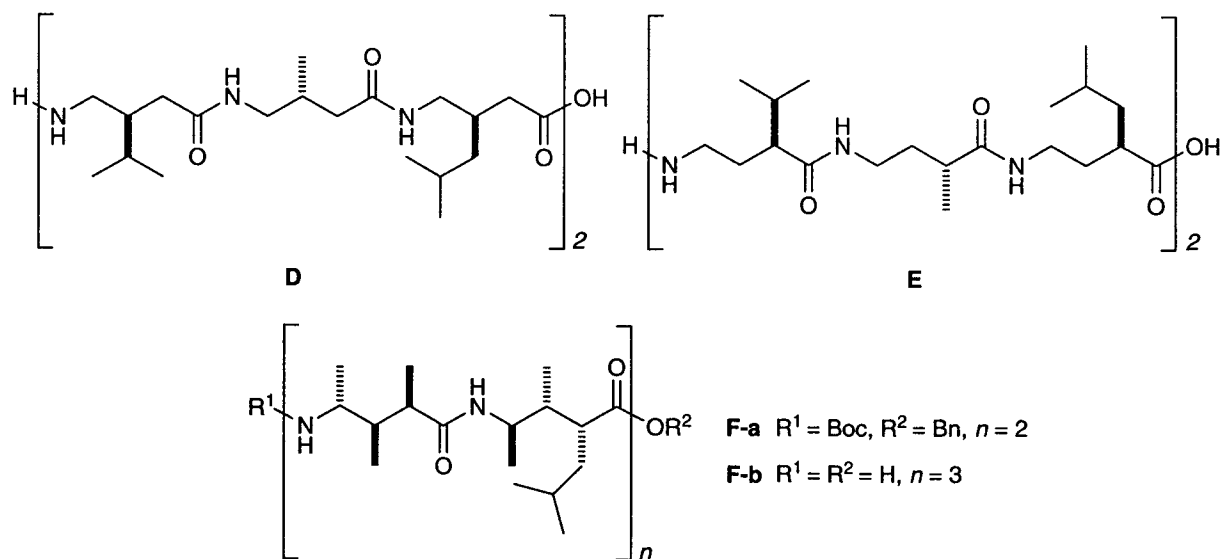
Zunächst wurde eine Methode zur Herstellung der benötigten  $\gamma$ -Aminosäuren ausgearbeitet. Der Schlüsselschritt ist die 1,4-Addition der chiralen Enolate von **A** an Nitroalkene (*Schema*). Diese Reaktion wurde mit verschiedenen Substituenten  $R^1$ ,  $R^2$  und  $R^3$  durchgeführt. Für  $R^1 \neq H$  wurden die Stereozentren in der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Position mit hoher Diastereoselektivität ( $dr > 95:5$ ) gebildet. Für  $R^1 = H$  war die Stereoselektivität bezüglich der  $\beta$ -Position etwas geringer, aber immer noch gut ( $dr = 86:14$  bis  $96:4$ ). Das stereogene Zentrum in der  $\gamma$ -Position wurde mit bescheidener Selektivität ( $dr = 80:20$ ) gebildet. Die Nitroverbindungen **B** wurden zu den Lactamen **C** reduziert, die zu den gewünschten  $\gamma$ -Aminosäuren umgesetzt wurden.



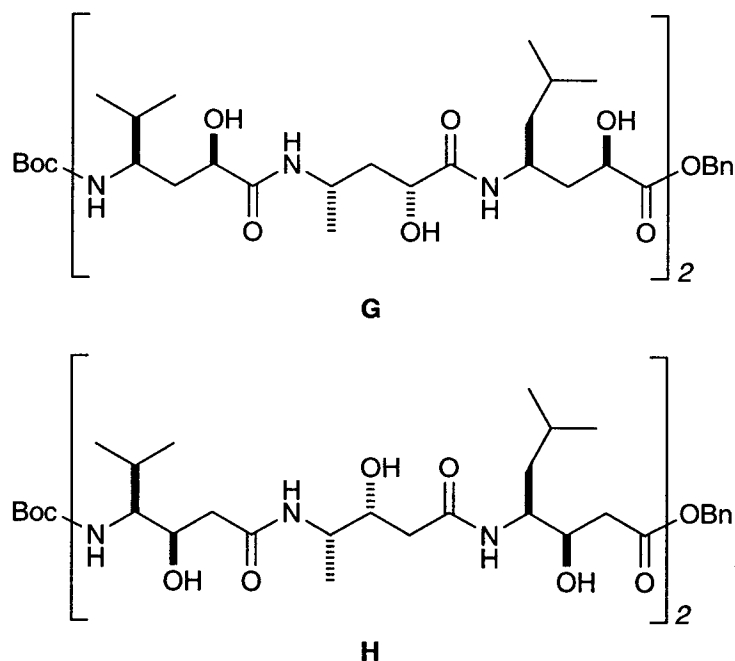
*Schema:* Stereoselektive 1,4-Addition des Acyloxazolidinons **A** an Nitroalkene. Die dabei erhaltenen Nitroverbindungen **B** können zu den Lactamen **C** umgesetzt werden.

Aus den erhaltenen  $\gamma$ -Aminosäuren wurden die  $\gamma$ -Peptide **D-F** hergestellt. CD- und NMR-Untersuchungen der  $\gamma^3$ - und  $\gamma^2$ -Peptide **D** und **F** lieferten keine Hinweise auf stabile Sekundärstrukturen, obwohl für das analoge  $\gamma^4$ -Hexapeptid eine helicale Struktur in  $C_5D_5N$  bestimmt wurde. Von dem  $\gamma^{2,3,4}$ -Tetrapeptid **F-a** konnte die

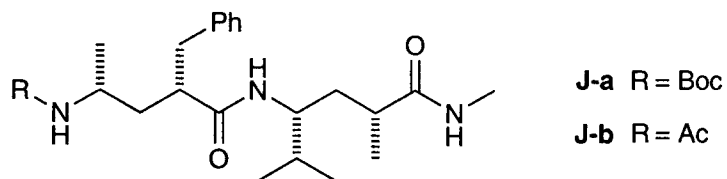
Kristallstruktur bestimmt werden. Diese Struktur enthält zwei 14-gliedrige Ringe, die durch intramolekulare Wasserstoffbrücken geschlossen sind. Die Konformation entspricht einer Windung einer  $2.6_{14}$ -Helix. Die gleiche  $2.6_{14}$ -helicale Struktur wurde mittels NMR-Spektroskopie auch für das  $\gamma^{2,3,4}$ -Hexapeptid F-b in methanolischer Lösung nachgewiesen.



Um den Einfluss von zusätzlichen funktionellen Gruppen auf die Sekundärstruktur zu untersuchen, wurden die  $\gamma$ -Peptide G (aus  $\alpha$ -Hydroxy- $\gamma^4$ -aminosäuren) und H (aus  $\beta$ -Hydroxy- $\gamma^4$ -aminosäuren) hergestellt. Die CD-Spekten dieser Verbindungen zeigen interessante Cotton-Effekte und Strukturuntersuchungen mittels NMR-Spektroskopie sind im Gange.



Kurze  $\beta$ -Peptide mit bestimmten Substitutionsmustern bilden in Lösung eine Schleife. Diese Verbindungen können  $\beta$ -Schleifen von  $\alpha$ -Peptiden nachahmen und wurden zur Herstellung von neuen Somatostatinanaloga verwendet. Um abzuklären, ob auch mit  $\gamma$ -Peptiden stabile Schleifen gebildet werden können, wurden die  $\gamma^{2,4}$ -Peptide **J-a** und **J-b** hergestellt.

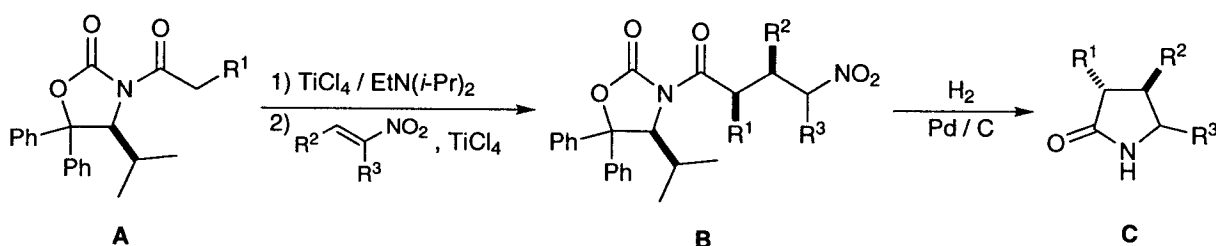


Die Kristallstrukturen von **J-a** und **J-b** zeigen eine Schleifenkonformation mit einem 14-gliedrigen, über eine Wasserstoffbrücke geschlossenen Ring. Die intramolekulare Wasserstoffbrücke liegt zwischen dem NH der C-terminalen Methylamidgruppe und der Carbonylgruppe der N-terminalen Acetyl- oder Boc-Gruppe vor. NMR-Untersuchungen ergaben, dass diese Struktur auch in methanolischer Lösung populiert ist. Basierend auf diesen Ergebnissen wurden Strukturen für mögliche Somatostatinanaloga vorgeschlagen.

## Summary

Oligomers that form well-defined and predictable conformations have attracted much attention in the last few years. The group of Professor *Seebach* has been particularly interested in short oligomers consisting exclusively of  $\beta$ -amino acids. Up to date, two different helical structures, sheets and a hairpin motif have been characterized and the acquired knowledge about the folding preferences of these so-called  $\beta$ -peptides allows now for the design of new molecules with specific biological activities. The  $\gamma$ -peptides have attracted much less attention, so far. Beside *Schreiber's* "vinylogous polypeptides", *i.e.*  $\gamma$ -peptides consisting of  $\alpha,\beta$ -unsaturated  $\gamma$ -amino acids, only  $\gamma^4$ - and  $\gamma^{2,4}$ -peptides have been reported. The major goal of this Ph. D. thesis was to prepare a variety of  $\gamma$ -peptides with different substitution patterns and to study their secondary structures.

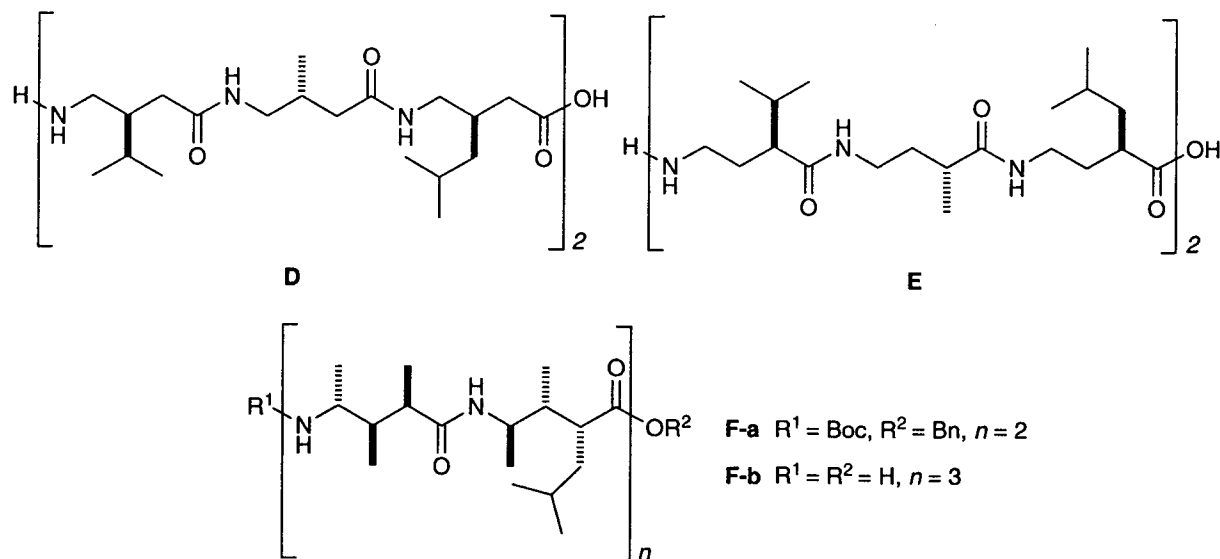
First, a method for the preparation of the required  $\gamma$ -amino acids was developed. The key step of this method is the 1,4-addition of chiral enolates from **A** to nitroalkenes (see *Scheme*). This reaction was carried out with different substituents  $R^1$ ,  $R^2$  and  $R^3$ . For  $R^1 \neq H$  the stereocenters in the  $\alpha$  and  $\beta$  positions with respect to the acyl carbonyl group were formed with high diastereoselectivity ( $dr > 95:5$ ) and for  $R^1 = H$  the selectivity was lower, but still good ( $dr = 86:14$  to  $96:4$ ). At the  $\gamma$ -position the selectivity was moderate ( $dr = 80:20$ ), and care had to be taken to avoid undesired side reactions. Nitro compounds **B** were reduced to lactams **C**, which could further be transformed to the required  $\gamma$ -amino acids.



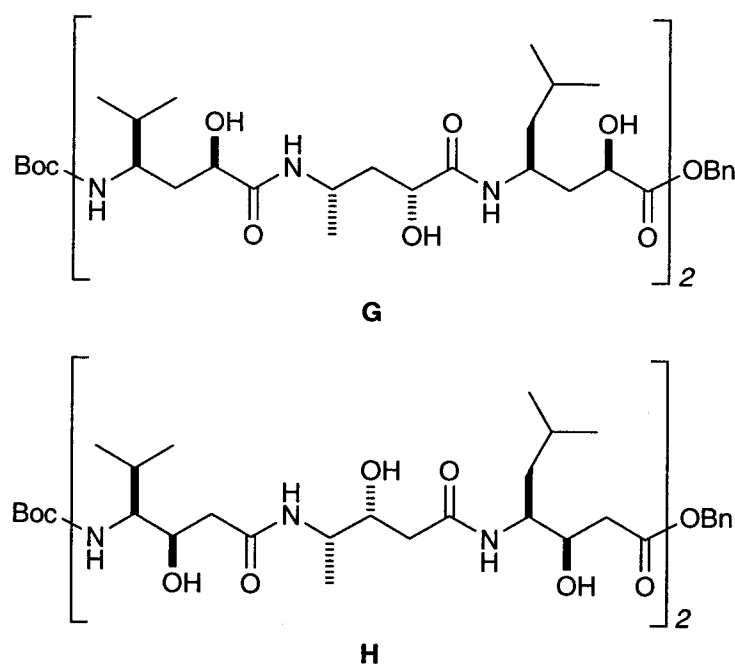
*Scheme:* Stereoselective 1,4-addition of the Ti-enolates, derived from acyl oxazolidinones **A**, to nitroalkenes yields  $\gamma$ -nitro acids **B**, which upon reduction cyclize to the lactams **C** with recovery of the auxiliary.

$\gamma$ -Peptides **D-F** were prepared from the obtained  $\gamma$ -amino acids. CD and NMR investigations of the  $\gamma^3$ - and  $\gamma^2$ -peptides **D** and **E** gave no hint on preferred secondary structures in solution. This is in contrast to the corresponding  $\gamma^4$ -peptide for which a

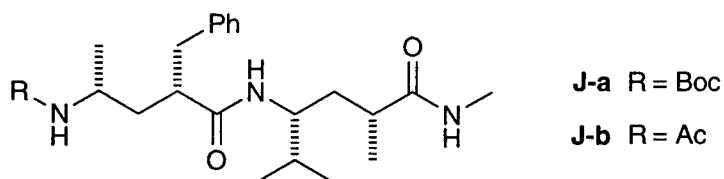
highly populated helical structure in  $C_5D_5N$  had been found. Of the  $\gamma^{2,3,4}$ -tetrapeptide **F-a** a crystal suitable for single-crystal structure analysis was obtained. The structure is characterized by two 14-membered H-bonded rings and corresponds to one turn of a  $2.6_{14}$ -helix. The same  $2.6_{14}$ -helical structure was also found by NMR-investigation of  $\gamma^{2,3,4}$ -hexapeptide **F-b** in methanol solution.



To study the influence of additional functional groups on the secondary structure,  $\gamma$ -peptide **G** (consisting of  $\alpha$ -hydroxy- $\gamma^t$ -amino acids) and  $\gamma$ -peptide **H** (consisting of  $\beta$ -hydroxy- $\gamma^t$ -amino acids) were prepared. CD-Investigations of these  $\gamma$ -peptides show interesting *Cotton* effects and investigations by NMR-techniques are under way.



Short peptides consisting of  $\beta$ -amino acids with appropriate substitution patterns form hairpin structures in solution. These compounds can serve as  $\beta$ -turn mimetics and were used in the development of new somatostatin analogs. In order to investigate the possibility of using  $\gamma$ -peptides as turn mimetics,  $\gamma^{2,4}$ -dipeptides **J-a** and **J-b** were synthesized.



The crystal structures of **J-a** and **J-b** show that these molecules form a turn, with a 14-membered H-bonded ring. The intramolecular H-bond is formed between the NH of the C-terminal methylamide group and the carbonyl group of the N-terminal acetyl- or Boc-group, respectively. NMR investigation revealed that this structure is also populated in methanol solution. Based on these observations, structures of  $\gamma$ -peptides that could serve as somatostatin analogues were proposed.