

## **10. Zusammenfassung**

Ziel dieser Arbeit war es, das Gift von *Agkistrodon piscivorus piscivorus* auf das Vorkommen von bradykininpotenzierenden Peptiden zu untersuchen und sie zu charakterisieren.

Die biologischen Aktivitäten wurden in einem Organbad am Meerschweinchenileum untersucht. Zur Auftrennung wurde HPLC-Chromatographie mit verschiedenen Säulenmaterialien eingesetzt.

Es konnten drei verschiedene bradykininpotenzierende Fraktionen getrennt werden, deren biologische Aktivität mit den bisher gefundenen potenzierenden Peptiden vergleichbar waren. Es war möglich, den stärksten Potentiator näher zu beschreiben. Als Molekülmasse ergab sich für dieses Peptid  $1223 \pm 0,3$  Dalton. Die Ermittlung einer Aminosäuresequenz war nur nach einer Inkubation mit PGAP (*L*-Pyroglutamyl-aminopeptidase) möglich, die zur selektiven Abtrennung der N-terminalen Pyroglutaminsäure eingesetzt wurde. Nach der Inkubation erhielt man eine Masse von  $1112 \pm 0,4$  Dalton. Die Massendifferenz von genau 111 Dalton entspricht der monoisotopischen Masse der Pyroglutaminsäure.

Es konnte die folgende Sequenz

**pGlu-Leu-Trp-Pro-Arg-Pro-His-Ile-Pro-Pro**

ermittelt werden.

Für eine der beiden anderen aktiven Fraktionen konnte ebenfalls eine Teilsequenz ermittelt werden, die nach dem Vergleich mit der massenspektroskopischen Untersuchung als

**Phe-Pro-Pro-Glu-Asp-Gln-Ile**

identifiziert werden konnte.

Als weitere Teilsequenz erhielt man :

**?-Asp-Lys-His-Pro-Glu-Pro?-Arg.**

Die dritte Fraktion ließ sich auch nach der PGAP-Inkubation nicht sequenzieren.

Die Struktur des neuen bradykininpotenzierenden Peptids **App<sub>1</sub>** wird mit bekannten Potentiatoren verglichen und deren Wirkmechanismen diskutiert.

## 11. Summary

Thomas Möllring: Investigation of the venom of *Agkistrodon piscivorus piscivorus* for bradykinin potentiating factors and their characterisation.

The purpose of this work was to examine the venom of *Agkistrodon piscivorus piscivorus* concerning the existence of bradykinin potentiating peptides and their characterisation. Guinea Pig Ileum was used for the biological tests, the separation was done by HPLC-techniques with differing column-materials.

It was possible to isolate three different bradykinin potentiating fractions whose biological activity was comparable to several potentiating peptides found and described before.

A successful attempt was made to characterise the fraction with the strongest potentiating effect. The molecular weight was  $1223 \pm 0,3$  Dalton. It was impossible to get the amino acid sequence without incubating the fraction with PGAP (*l*-pyroglutamyl-aminopeptidase), which cuts the N-terminal pyroglutamic acid.

Afterwards the molecular mass naturally decreased to  $1112 \pm 0,4$  Dalton.

The amino acid sequence founded for this potentiator is :

**pGlu-Leu-Trp-Pro-Arg-Pro-His-Ile-Pro-Pro**

For only one of the remaining two fractions it was possible to describe the entire amino acid sequence, especially after the additional mass spectrometry. The following major sequence was found:

**Phe-Pro-Pro-Glu-Asp-Gln-Ile**

Another fraction-fragment had the minor sequence:

**?-Asp-Lys-His-Pro-Glu-Pro-?-Arg.**

It was impossible to find the sequence of the third fraction, not even after a PGAP-incubation has taken place.

Finally the structure of the newly found bradykinin potentiating peptide **App<sub>1</sub>** was compared with well-known potentiators and their mechanisms of activity were discussed.