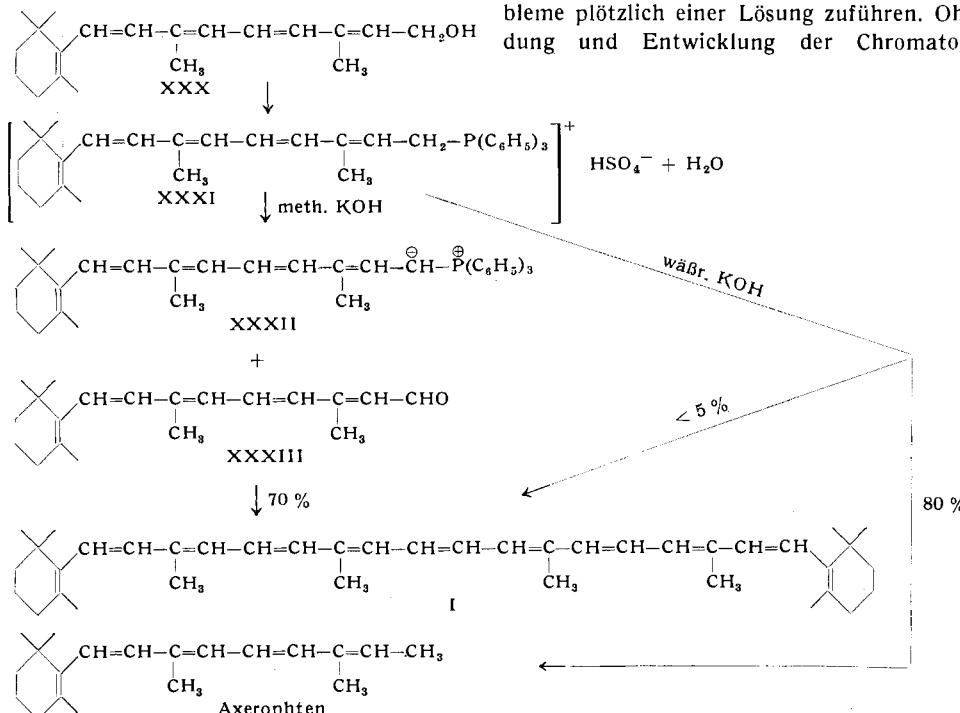


bildet mit Vitamin-A-Aldehyd (XXXIII) in einer Ausbeute von 70% β -Carotin (I). An Stelle von Vitamin-A-Alkohol kann mit gleichem Erfolg auch Anhydro-Vitamin-A eingesetzt werden.

Im Hinblick auf die Arbeiten von *Karrer* und *Schwyzer*³⁾ sei vermerkt, daß bei der Zersetzung von Axerophyl-triphenylphosphoniumsalzen (XXXI) mit wäßrig-alkoholischer Kalilauge als Hauptprodukt zwar Axerophthen (XXIV), als Nebenprodukt, auch bei Abwesenheit von Sauerstoff, jedoch β -Carotin (I) (Ausbeute unter 5%) gebildet wird.



Die beschriebenen Synthesen liefern stets Germische cis-trans-isomerer β -Carotine, besonders wird beim Arbeiten nach dem Schema C₁₃ + C₁₄ + C₁₃ ein Stereoisomeren-Gemisch erhalten, das neben wenig all-trans- β -Carotin überwiegend 9,9'-di-cis- β -Carotin enthält. Wie in der Vitamin-A-Reihe ist dieses Isomere sehr stabil und relativ schwierig umzulagern. Die Abtrennung der cis-Formen des β -Carotins von der all-trans-Form wird dadurch sehr erleichtert, daß meist nur die all-trans-Form aus dem Reaktionsgemisch

kristallisiert. Das gilt insbesondere für die vom Vinyl- β -jonol und Vitamin-A-Alkohol resp. Anhydro-Vitamin-A ausgehenden Synthesen.

Beim Schreiben dieses Aufsatzes, der Professor *Richard Kuhn* gewidmet ist, sind fast auf den Tag genau 10 Jahre seit der ersten Totalsynthese des β -Carotins vergangen. Es ist unverkennbar, welche Fortschritte die präparative organische Chemie seither gemacht hat. Immer sind es neue Methoden und Reaktionen, die unlösbar scheinende Probleme plötzlich einer Lösung zuführen. Ohne die Anwendung und Entwicklung der Chromatographie durch

R. Kuhn wäre die Trennung der Carotinoide und deren exakte Konstitutionsaufklärung ebensowenig möglich gewesen wie deren einfache Synthese ohne die von *G. Wittig* gefundene neue Olefinierungsreaktion.

An den vorstehend beschriebenen Arbeiten zur Synthese von Verbindungen der Carotinoid-Reihe waren außer dem Verfasser *Chemiker, Physiker und Ingenieure* beteiligt, von denen hier nur *W. Sarnecki, W. Stilz und W. Reif* genannt seien.

Eingegangen am 31. August 1960 [A 86]

Synthese eines Nonadeka-peptides mit hoher corticotroper Wirksamkeit

Von Prof. Dr. R. SCHWYZER, Dr. W. RITTEL, Dr. H. KAPPELER und Dr. B. ISELIN

Forschungslaboratorien der Ciba-Aktiengesellschaft, Pharmazeutische Abteilung, Basel

Prof. Dr. Richard Kuhn zum 60. Geburtstage gewidmet

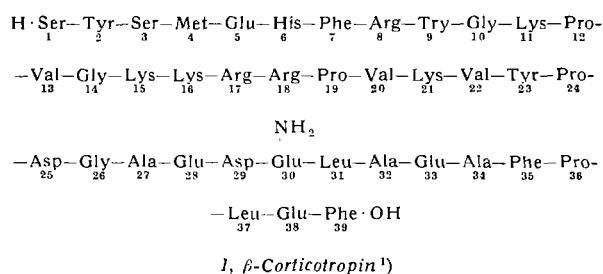
Ein Nonadekapetid, welches die N-terminale Hälfte der Corticotropin-Moleköl umfaßt, wurde synthetisiert. Dabei wurden neue Kombinationen von Schutzgruppen verwendet, welche leicht mit Hilfe von wasserfreier Trifluor-essigsäure quantitativ wieder entfernt werden können. Das Nonadekapetid zeigt eine corticotrope Wirkung von annähernd 20-30 I.E./mg.

β -Corticotropin (I, aus Schweinehypophysen) kann durch Pepsin unter Erhaltung der biologischen Wirksamkeit abgebaut werden; dabei entstehen insbesondere drei wirksame Polypeptide, deren kleinster Vertreter die Aminosäuresequenz 1-28 des β -Corticotropins umfaßt. Bei der milden Säurehydrolyse entstehen ebenfalls aktive Abbaupeptide, und es wurde auf indirektem Wege geschlossen, daß das kürzeste dieser Abbauprodukte immerhin noch die ersten

24 Aminosäure-Reste des β -Corticotropins enthält¹⁾. Wird dagegen die erste (oder auch die zweite) Aminosäure (Ser¹, Tyr²) aus dem Corticotropin-Verband entfernt, so fällt die biologische Aktivität sehr stark ab²⁾.

¹⁾ R. G. Shepherd, S. D. Willson, K. S. Howard, P. H. Bell, D. S. Davies, S. B. Davis, E. A. Eigner u. N. E. Shakespeare, J. Amer. chem. Soc. 78, 5067 [1956].

²⁾ W. F. White, J. Amer. chem. Soc. 77, 4691 [1955].



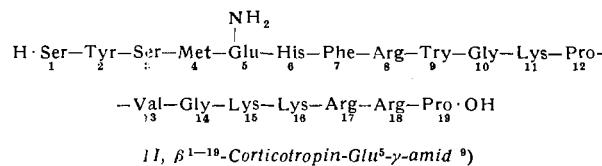
Boissonnas und Mitarbeiter³⁾ haben seinerzeit die Synthese eines Eikosapeptides beschrieben, welches die ersten 20 Aminosäure-Reste des Corticotropins umfaßt. Das Produkt besaß etwas mehr als 1 Prozent der Wirkung des reinen Corticotropins im *in vitro*-Test nach *Saffran* und *Schally*⁴⁾ (2 bis 3 I. E. pro mg).

Auf Grund unserer Versuche mit Peptiden der Sequenz 4–10 und 1–10, welche *in vitro* CRF-aktiv sind^{5, 6)}, aber keine corticotrope Wirkung aufweisen, kann man annehmen, daß für eine solche Aktivität die basischen Reste Nr. 11, 15, 16, 17, 18 und 21 für die Wirkung wesentlich sind. Es war etwas überraschend, daß nach den Befunden von Boissonnas und Mitarbeiter⁸⁾ dem Lys²¹ eine ganz entscheidende Rolle für die Entfaltung einer starken Wirkung zukommen soll.

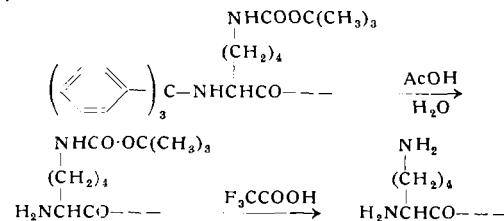
Wir haben deshalb, unter Auswertung unserer Erfahrungen bei der Synthese eines geschützten Oktadekapetides mit der Aminosäure-Sequenz des β -MSH aus Rinderhypophysen⁷⁾, ähnliche Grundsätze für die Unterteilung der Sequenz und den Aufbau der Peptid-Zwischenprodukte⁸⁾ auf die Synthese eines Peptides mit der Sequenz 1-19 des Corticotropins (Glutamin an Stelle von Glutaminsäure) angewandt (II, Pro¹⁹ C-endständig, damit das betreffende Zwischenprodukt, D 15-19, Tabelle 3, T- an Stelle von H-, zu weiteren Synthesen von höheren Peptiden ohne Racemisierungsgefahr gebraucht werden könnte).

Da sich aus dem erwähnten, geschützten MSH-Peptid die Schutzgruppen durch alkalische Verseifung und Reduk-

tion mit Na in flüssigem Ammoniak nur schwer und unter teilweiser Zerstörung des Moleküls und der biologischen Aktivität entfernen lassen¹⁰), haben wir Schutzgruppen gewählt, welche in milder Weise mittels einer säurekatalysierten Reaktion entfernt werden können. Dafür haben wir neue Wege beschreiten müssen: von entscheidender Bedeutung



für den Erfolg waren die Synthese von N^t-t-Butyloxycarbonyl-L-lysin und die Beobachtung, daß sich N^α-Trityl-Gruppen mit wäßriger Essigsäure unter Erhaltung von N^t-t-Butyloxycarbonyl-Gruppen (und der t-Butylester-Gruppe) abspalten lassen. Letztere werden erst durch starke Säuren (z.B. Trifluoressigsäure) in schneller Reaktion entfernt:



Die Synthese gelang nach Tabelle 1 durch Kondensation des Tetrapeptid-Derivates A 11–14 mit dem Pentapeptid-Derivat A 15–19 nach der Methode der gemischten Anhydride¹¹), Abspaltung der Phenylazo-benzyloxycarbonyl-Gruppe und der beiden Nitro-Gruppen durch katalytische Hydrierung zum Nonapeptid-Derivat B 11–19, welches durch Lyophilisieren mit Toluolsulfosäure als Tri-toluolsulfonat erhalten wurde (die Synthesen der Zwischenprodukte A 11–14 und A 15–19 sind in den Tabellen 2 und 3 skizziert). Dieses Nonapeptid-Derivat wurde

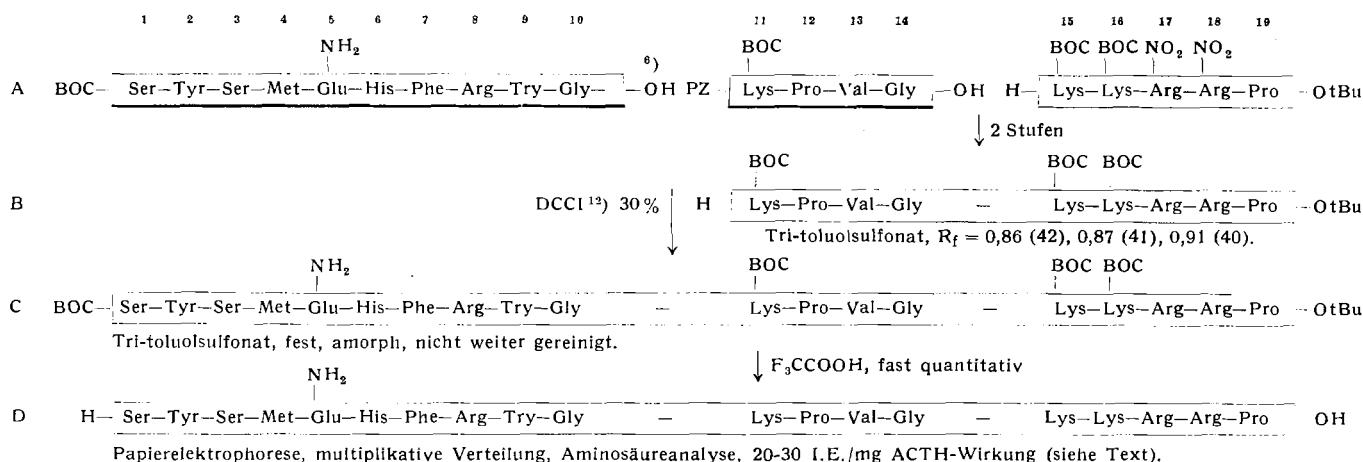


Tabelle 1. Verwendete Abkürzungen siehe ¹⁹).

³⁾ R. A. Boissonnas, St. Guttmann, J.-P. Waller u. P.-A. Jaquenoud, Experientia 12, 446 [1956].

⁴⁾ M. Saffran u. A. V. Schally, Endocrinology 56, 523 [1955].

⁵⁾ M. P. de Garilhe, Cl. Gros, J. Porath u. E.-B. Lindner, Exp.

⁶⁾ H. Kappeler u. R. Schwyzer, Experientia 16, 415 [1960]; Helv. chim. Acta 43, 1453 [1960].

⁷⁾ R. Schwyzer, H. Kappeler, B. Iselin, W. Rittel u. H. Zuber, Helv. chim. Acta 42, 1702 [1959]; MSH = Melanophoren stimulierendes Hormon.

Hormon.

⁸⁾ Vorgetragen von einem von uns (R. S.) am Seminar des Hormone Research Laboratory (Prof. C. H. Li), University of California, Berkeley (25. 6. 1959), auf der Gordon Research Conference on Proteins and Nucleic Acids (Juli 1959) und als Sektions-Hauptvortrag am Internationalen Kongreß für Reine und Angewandte Chemie, München, 1959.

mit dem Acetat von A 1-10 (Tabelle 1), dessen Synthese in der Tabelle 4 dargestellt ist, in wäßriger Lösung lyophilisiert, wobei die Essigsäure vertrieben wurde. Das Gemisch wurde in Pyridin-Lösung unter der Wirkung von Dicyclohexyl-carbodiimid¹²⁾ kondensiert.

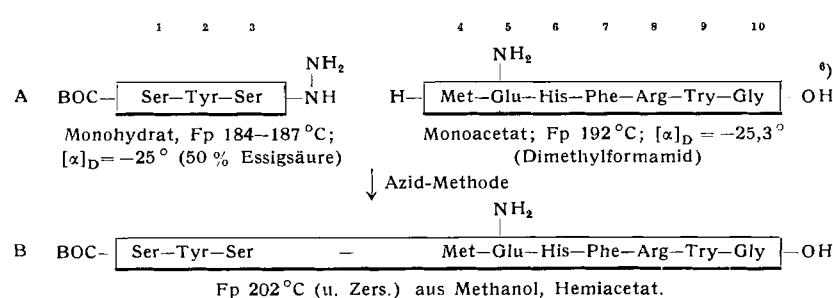
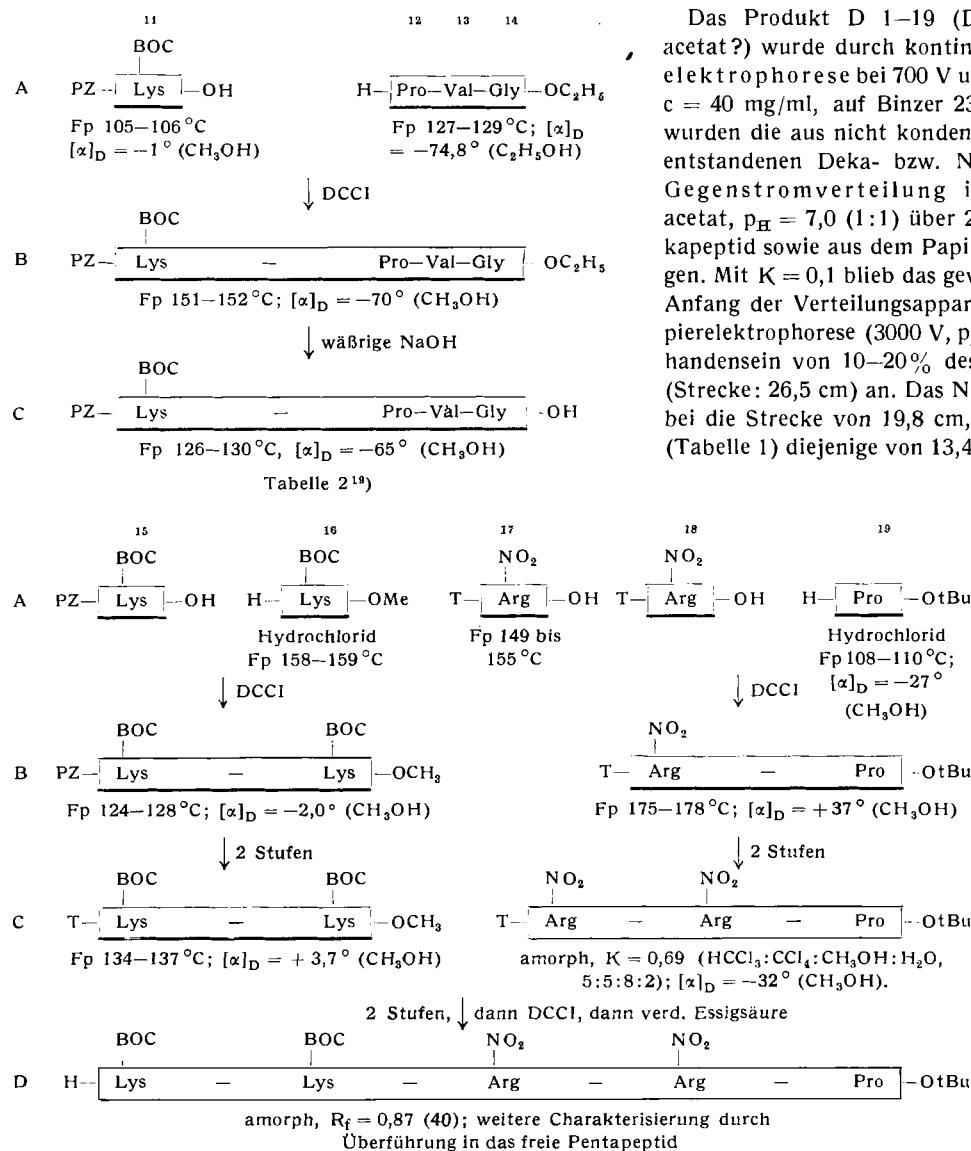
⁹⁾ Zur Nomenklatur vgl. R. Schwyzer, B. Iselin, H. Kappeler, B. Riniker, W. Rittel u. H. Zuber, Chimia 11, 335 [1957]; C. H. Li, Science [Washington] 129, 969 [1959].

¹⁰⁾ Eigene, uneröffentlichte Versuche.
¹¹⁾ R. A. Boissennas, Helv. chim. Acta 34, 874 [1951]; J. R. Vaughan jr., J. Amer. chem. Soc. 73, 3547 [1951]; Th. Wieland u. H. Bernhard, Liebigs Ann. Chem. 572, 190 [1951].

¹²) J. C. Sheehan u. G. P. Hess, J. Amer. chem. Soc. 77, 1067 [1955].

Das geschützte Nonadekapeptid C 1–19 wurde als solches nicht weiter gereinigt, sondern (zusammen mit verbliebenen Anteilen von A 1–10 und B 11–19) mit Trifluoressig-

säure bei Zimmertemperatur behandelt, wobei die t-Butyl-ester-Gruppe und die t-Butyloxycarbonyl-Gruppen quantitativ entfernt wurden.



¹⁸⁾ „Elphor VaP“-Apparatur von Bender & Hoben, München. — Dr. H. Zuber möchten wir für die Ausführung der Trennung bestens danken.

¹⁹⁾ In dankenswerter Weise ausgeführt von Dr. R. Weber, Organische Anstalt der Universität Basel nach der Methode von S. Moore, D. H. Spackman u. W. H. Stein, Analytic. Chem. 30, 1185, 1190 [1958].

²⁰⁾ T. W. Goodwin u. R. A. Morton, Biochem. J. 40, 628 [1946].

²¹⁾ M. A. Sayers, G. Sayers u. L. A. Woodbury, Endocrinology 42, 379 [1948].

²²⁾ C. H. Li und Mitarbeiter haben dieselbe Peptidsequenz auf andere Weise synthetisiert und ähnliche Beobachtungen gemacht (persönliche Mitteilung von C. H. Li).

¹⁸⁾ Helv. chim. Acta, 1961.

¹⁹⁾ Formelbilder nach R. Schwyzer, Chimia 12, 53 [1958]; starke Unterstreichung bedeutet kristallisierte Verbindung; weitere Abkürzungen: BOC = t-Butyloxycarbonyl-, T = Trityl-, -OtBu = t-Butyloxy-, DCCI = Dicyclohexyl-carbodiimid, PZ = p-Phenylazo-butyroxy-carbonyl-²⁰). Papierchromatographische Systeme: (40) = n-C₄H₉OH:C₂H₅OH:H₂O (2:2:1); (41) = t-C₄H₉OH:n-C₄H₉OH:H₂O (4:3:3); (42) = n-C₄H₉OH:CH₃COOC₂H₅:H₂O (7:1:2).

²⁰⁾ R. Schwyzer, P. Sieber u. K. Zatsko, Helv. chim. Acta 41, 491 [1958].

Ausführliche Publikationen über den Verlauf der komplizierten Synthese werden vorbereitet¹⁸).

Eingegangen am 19. Oktober 1960 [A 92]