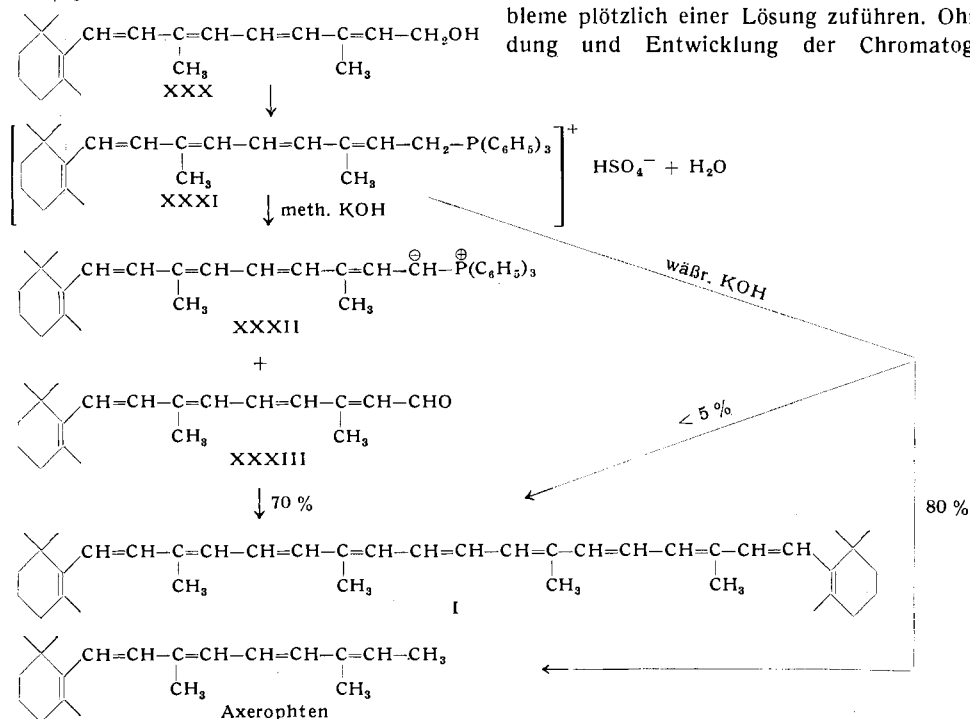


bildet mit Vitamin-A-Aldehyd (XXXIII) in einer Ausbeute von 70%  $\beta$ -Carotin (I). An Stelle von Vitamin-A-Alkohol kann mit gleichem Erfolg auch Anhydro-Vitamin-A eingesetzt werden.

Im Hinblick auf die Arbeiten von Karrer und Schwyzer<sup>3)</sup> sei vermerkt, daß bei der Zersetzung von Axerophyt-triphenylphosphoniumsalzen (XXXI) mit wäßrig-alkoholischer Kalilauge als Hauptprodukt zwar Axerophthen (XXXIV), als Nebenprodukt, auch bei Abwesenheit von Sauerstoff, jedoch  $\beta$ -Carotin (I) (Ausbeute unter 5%) gebildet wird.



Die beschriebenen Synthesen liefern stets Gemische cis-trans-isomerer  $\beta$ -Carotine, besonders wird beim Arbeiten nach dem Schema C<sub>13</sub> + C<sub>14</sub> + C<sub>13</sub> ein Stereoisomeren-Gemisch erhalten, das neben wenig all-trans- $\beta$ -Carotin überwiegend 9,9'-di-cis- $\beta$ -Carotin enthält. Wie in der Vitamin-A-Reihe ist dieses Isomere sehr stabil und relativ schwierig umzulagern. Die Abtrennung der cis-Formen des  $\beta$ -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- $\beta$ -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  $\beta$ -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. Geburtstag gewidmet

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

$\beta$ -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  $\beta$ -Corticotropins umfaßt. Bei der milden Säurehydrolyse entstehen ebenfalls aktive Abbaupolypeptide, und es wurde auf indirektem Wege geschlossen, daß das kürzeste dieser Abbauprodukte immerhin noch die ersten

24 Aminosäure-Reste des  $\beta$ -Corticotropins enthält<sup>1)</sup>. Wird dagegen die erste (oder auch die zweite) Aminosäure (Ser<sup>1</sup>, Tyr<sup>2</sup>) aus dem Corticotropin-Verband entfernt, so fällt die biologische Aktivität sehr stark ab<sup>2)</sup>.

<sup>1)</sup> 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].

<sup>2)</sup> W. F. White, J. Amer. chem. Soc. 77, 4691 [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-Butylester-Gruppe und die t-Butyloxycarbonyl-Gruppen quantitativ entfernt wurden.

Das Produkt D 1–19 (Ditoluolsulfonat-pentatrifluoracetat?) wurde durch kontinuierliche Hochspannungselektrophorese bei 700 V und 30 mA in 0,5 N Essigsäure,  $c = 40$  mg/ml, auf Binzer 230-Karton gereinigt<sup>18)</sup>. Dabei wurden die aus nicht kondensierten A 1–10 und B 11–19 entstandenen Dek- bzw. Nonapeptide z.T. abgetrennt. Gegenstromverteilung in n-BuOH-0,4 M Ammonacetat,  $p_H = 7,0$  (1:1) über 200 Stufen entfernte alles Dekapeptid sowie aus dem Papier stammende Verunreinigungen. Mit  $K = 0,1$  blieb das gewünschte Nonadekapeptid am Anfang der Verteilungsapparatur zurück. Analytische Papierelektrophorese (3000 V,  $p_H$  1,9, 60 min) zeigte das Vorhandensein von 10–20% des Nonapeptides aus B 11–19 (Strecke: 26,5 cm) an. Das Nonadekapeptid durchläuft dabei die Strecke von 19,8 cm, das Dekapeptid aus A 1–10 (Tabelle 1) diejenige von 13,4 cm. Die quantitative Aminosäureanalyse<sup>14)</sup> ergab einen Gehalt des Produktes an D 1–19 von 65% nebst 15% des Nonapeptides aus B 11–19. Die restlichen 20% bestehen aus Wasser, Säuren und etwas Ammonacetat. Die Bestimmung von Tryptophan nach der spektrophotometrischen Methode<sup>15)</sup> ergab die Anwesenheit dieser Aminosäure in äquimolarer Menge. Durch wiederholte elektrophoretische Trennung läßt sich die Reinigung vervollständigen.

Von B. Schär und W. Schuler wurde die corticotrope Wirkung nach Sayers<sup>16)</sup> bestimmt und eine Aktivität von 20–30 I.E. pro mg D 1–19 (Molekulargewicht 2346) gefunden. Damit wird gezeigt, daß schon die N-terminale Hälfte der Corticotropin-Molekel (ohne Lys<sup>21)</sup> zur Entfaltung einer

beträchtlichen ACTH-Wirkung ausreicht<sup>17)</sup>. Das freie Nonapeptid aus B 11–19 (Tabelle 1) ist inaktiv in Dosen bis 1 mg pro 100 g Ratte.

Ausführliche Publikationen über den Verlauf der komplizierten Synthese werden vorbereitet<sup>18)</sup>.

Eingegangen am 19. Oktober 1960 [A 92]

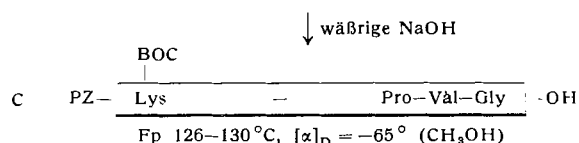
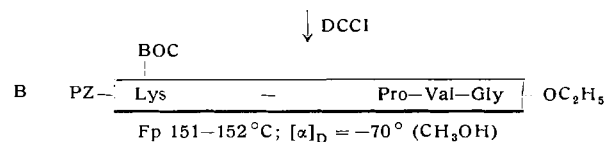
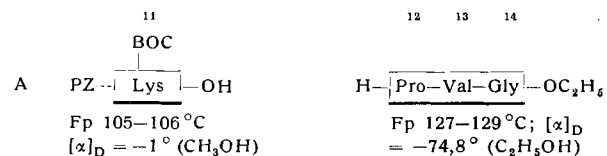


Tabelle 2<sup>19)</sup>

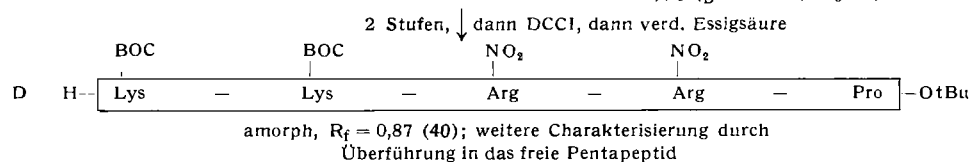
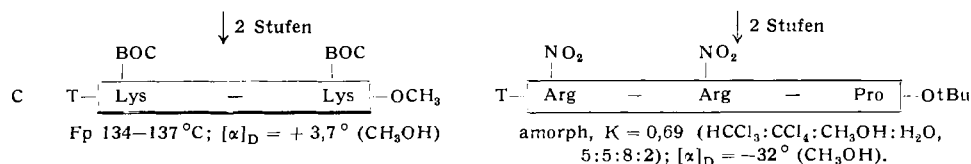
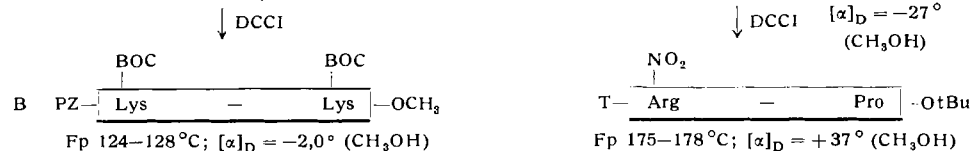
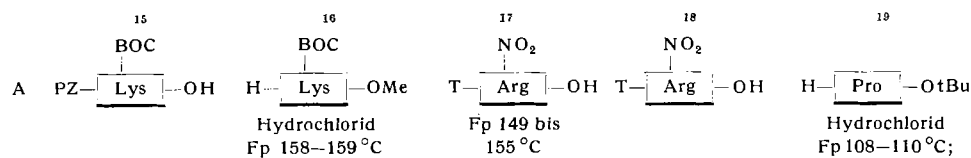


Tabelle 3<sup>19)</sup>

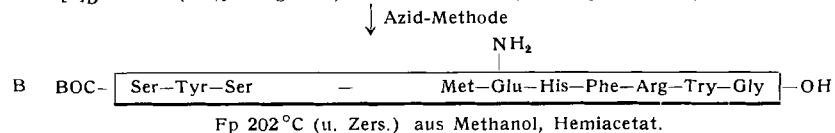
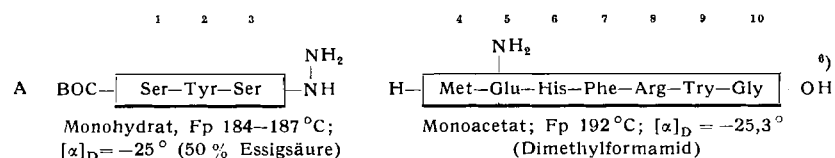


Tabelle 4<sup>19)</sup>

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

<sup>14)</sup> In dankenswerter Weise ausgeführt von Dr. R. Weber, Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel nach der Methode von S. Moore, D. H. Spackman u. W. H. Stein, Analytic. Chem. 30, 1185, 1190 [1958].

<sup>15)</sup> T. W. Goodwin u. R. A. Morton, Biochem. J. 40, 628 [1946].

<sup>16)</sup> M. A. Sayers, G. Sayers u. L. A. Woodbury, Endocrinology 42, 379 [1948].

<sup>17)</sup> C. H. Li und Mitarbeiter haben dieselbe Peptidsequenz auf andere Weise synthetisiert und ähnliche Beobachtungen gemacht (persönliche Mitteilung von C. H. Li).

<sup>18)</sup> Helv. chim. Acta, 1961.

<sup>19)</sup> Formelbilder nach R. Schwyzer, Chimia 12, 53 [1958]; starke Unterstreichung bedeutet kristallisierte Verbindung; weitere Abkürzungen: BOC = t-Butyloxycarbonyl-, T = Trityl-, -OtBu = t-Butoxy-, DCCI = Dicyclohexyl-carbodiimid, PZ = p-Phenylazo-benzyloxy-carbonyl-<sup>20)</sup>. Papierchromatographische Systeme: (40) = n-C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>OH:C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH:H<sub>2</sub>O (2:2:1); (41) = t-C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>OH:n-C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>OH:H<sub>2</sub>O (4:3:3); (42) = n-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>OH:CH<sub>3</sub>COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>:H<sub>2</sub>O (7:1:2).

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