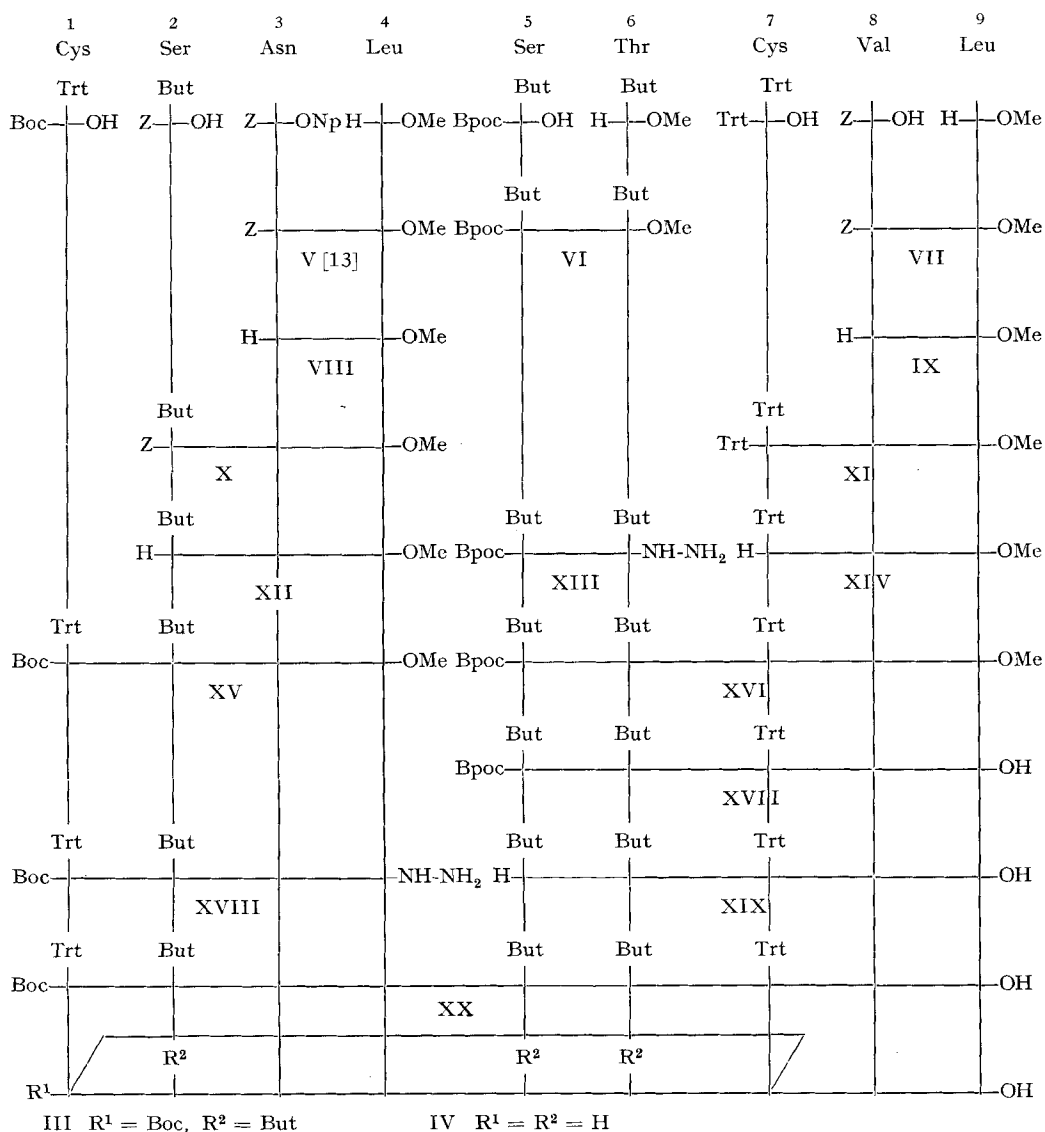


³⁾ Ein nur am Cysteinrest 1 geschütztes, cyclisches Nonapeptidderivat (1-9) wurde von GUTTMANN und Mitarb. [7] bei der Synthese von I verwendet.

Fig. 2. Aufbau des geschützten (III) und freien (IV) α -Thyrocalcitonin-(1-9)-nonapeptids

Anlage der Synthese. Zum Aufbau von III stellte man auf dem in Fig. 2 angegebenen Weg zuerst die lineare, geschützte Nonapeptidsequenz XX her. Dabei diente zum Schutz der α -Aminogruppe am Cys¹ der Boc-Rest; die Seitenkettenhydroxylgruppen der Serin- und Threoninreste schützte man durch Verätherung mit *t*-Butanol [8]. Intermediär zu schützende α -Aminogruppen beim Aufbau der Peptidkette verschloss man entweder mit dem Benzoxycarbonylrest oder aber mit der Bpoc- [3] oder Tritylgruppe; beide sind unter ähnlichen, sehr milden sauren Bedingungen hydrolysierbar. Die Carboxylgruppe des Leucinrests 9 lag bei der Kupplung zum Nonapeptid

bereits frei vor; dadurch konnte Alkalibehandlung (Verseifung, Hydrazinolyse) dieser Sequenz vermieden werden.

Zum Schutz der Mercaptogruppen der Cysteinreste benutzen wir die hierfür erstmals von VELLUZ und Mitarbeitern [9] verwendete Tritylgruppe. S-Tritylgruppen können mit Quecksilber(II)- oder Silbersalzen in Gegenwart von säurelabilen Schutzgruppen abgespalten werden [5]. Für den anschliessenden Ringschluss bot sich die von WEYGAND & ZUMACH [6] eingeführte Oxydation mit Dijodäthan an. Wie bereits früher [10] in einem ähnlichen Fall, ermöglichte diese Methodik die Herstellung des cyclischen III in annehmbarer Ausbeute. Inzwischen haben wir eine besonders einfache, direkte Cyclisierungsmethode gefunden. So wird das Ditritylnona-peptid XX durch Einwirkung von Jod direkt und in sehr guter Ausbeute in III übergeführt [11].

Aufbau des linearen Nona-peptidderivates XX (vgl. Fig. 2). Mittels DCCI kondensierte man Z-Val-OH und H-Leu-OMe zum kristallinen Z-Val-Leu-OMe. Katalytische Hydrierung in Gegenwart von HCl gab das ebenfalls kristalline Hydrochlorid IX. Die weitere Verknüpfung der beiden sterisch stark gehinderten Komponenten IX und Trt-Cys(Trt)-OH zum Tripeptid XI gelang durch DCCI-Kupplung in 65-proz. Ausbeute. Die selektive Abspaltung der N-Tritylgruppe aus XI zu XIV erfolgte durch 80-proz. Essigsäure. Zur anschliessenden Azidkondensation mit XIII setzte man XIV als freie Base ein, doch kann auch das aus der Detritylierung direkt erhaltene, essigsaurer Salz verwendet werden.

Der nach der Methode der gemischten Anhydride hergestellte Methylester VI fiel als Öl an und wurde ohne Reinigung in das kristalline Hydrazid XIII übergeführt.

Zur Azidkondensation der Fragmente XIII und XIV diente die von HONZL & RUDINGER [12] beschriebene Modifikation dieser Methode. Zwar war die Ausbeute niedrig (57%) doch konnte das Pentapeptidderivat XVI in kristalliner Form erhalten werden. Verseifung des Methylesters zur Säure XVII und Abspaltung der Bpoc-Gruppe mit Monochloressigsäure [3] führte zum kristallinen innern Salz XIX.

Der Aufbau des Fragments 1–4 (XVIII) erfolgte stufenweise vom Carboxylende her, ausgehend von Z-Asn-Leu-OMe [13]. Katalytische Hydrierung und Kondensation mit Z-Ser(But)-OH mittels DCCI-Hosu [14] gab den kristallinen Tripeptidester X. Nach katalytischer Hydrierung und Kuppeln des kristallinen Tripeptidesters XII mit Boc-Cys(Trt)-OH mittels DCCI erhielt man das amorphe, durch Umfällen rein erhaltene Tetrapeptidderivat XV, dessen Hydrazinolyse zu XVIII führte.

Die Verknüpfung der Fragmente 1–4 (XVIII) und 5–9 (XIX) durch Azidkupplung [12] lieferte das lineare Nona-peptidderivat XX (mit freier Carboxylgruppe am Leucin 9) in einer Ausbeute von 53%. XX konnte aus Methanol kristallisiert werden; Analysenwerte und Resultat der Molekulargewichtsbestimmung (vaporometrische Methode [15]) stimmen mit den erwarteten Werten überein.

Herstellung und Charakterisierung des cyclischen Nona-peptids III. Zur Überführung in III spaltete man aus XX die beiden S-Tritylgruppen in Dimethylformamid-Methanol-Lösung durch Hg^{2+} -Acetat [5] ab und setzte aus dem dabei in schwerlöslicher Form ausfallenden Mercaptid mittels H_2S das lösliche, detritylierte Nona-peptid mit freien SH-Gruppen frei. Dieses wurde ohne Isolierung mit Dijodäthan [6] in verdünnter Lösung in III übergeführt. Man erhielt das cyclische Nona-peptid III nach Gegenstromverteilung in amorpher, aber reiner Form. Die vaporometrische Molekulargewichtsbestimmung ergab einen Wert von 1200 ± 100 (berechnet 1205). Unter den verwendeten Versuchsbedingungen entstand zur Hauptsache monomeres III; wir haben im Rohprodukt der Oxydation von XX keine definierten Di- oder Polymeren beobachtet.

Zur weiteren Charakterisierung sowie für biologische Untersuchungen wurde III mittels 90-proz. Trifluoressigsäure in das freie Nona-peptid IV übergeführt. Dazu ist

eine Reaktionszeit von mehr als 2 Std. erforderlich [1]. IV zeigte zwar bei Dünnschichtchromatographie in mehreren Systemen nur einen einzigen Fleck; bei Dünnschichtelektrophorese bei pH 1,9 war hingegen eine geringe Menge eines stärker zur Kathode wandernden Nebenprodukts sichtbar. Die Aminosäureanalyse nach Totalhydrolyse gab das erwartete Aminosäureverhältnis.

Im Test nach KUMAR *et al.* [16] erwies sich IV an der Ratte als wirkungslos bis in Dosen von 1 mg/Tier⁴⁾ (0,1 γ I sind voll aktiv).

Experimenteller Teil

Die Smp. sind auf einem Apparat nach Dr. TOTTOLI (d. Fa. BÜCHI, Flawil) bestimmt und nicht korrigiert.

Aufarbeitungen unter «üblichen Bedingungen» und katalytische Hydrierungen erfolgten in der bei [1] beschriebenen Weise.

Chromatographische Reinheitskontrolle: alle angegebenen Rf-Werte beziehen sich auf Dünnschichtchromatographien auf Silicagelplatten (Fertigplatten SL 254 der Firma ANTEC, Birsfelden).

Fliessmittel (Angaben in Volumenteilen):

System 43A:	<i>t</i> -Amylalkohol-2-Propanol-Wasser	67 + 26 + 7
System 43C:	<i>t</i> -Amylalkohol-2-Propanol-Wasser	51 + 21 + 28
System 45:	2-Butanol-3-proz. wässriger NH ₃	70 + 30
System 52:	1-Butanol-Essigsäure-Wasser	71 + 7 + 22
System 53:	1-Butanol-Ameisensäure-Wasser	60 + 0,75 + 39
System 70:	Essigester-Pyridin-Wasser	40 + 20 + 40 (ob. Phase)
System 101:	1-Butanol-Pyridin-Essigsäure-Wasser	30:24:8:30
System 101A:	1-Butanol-Pyridin-Essigsäure-Wasser	42:24:4:30
System 121:	2-Propanol-konz. wässriges NH ₃ -Wasser	70 + 10 + 20

Die Anfärbung der Platten erfolgte mit REINDEL-HOPPE-Reagens oder spezifischen Reagentien nach [17].

Zur Herstellung der als Ausgangsmaterialien eingesetzten Aminosäurederivate vgl. [18].

Sequenz 1–4 (XVIII). – *H*-Asn-Leu-OMe (VIII): 15,0 g (38,2 mMol) Z-Asn-Leu-OMe (V) [14] wurden in *t*-Butanol-Wasser (9:1) wie üblich hydriert. Das Rohprodukt, welches nach Titration mit Säure 9,0 g Dipeptidester (91%) enthielt, wurde möglichst schnell weiterverarbeitet.

Z-Ser(But)-Asn-Leu-OMe (X): 8,90 g (34,3 mMol) VIII und 11,00 g (37,3 mMol) Z-Ser(But)-OH wurden in 100 ml Dimethylformamid gelöst. Dann kühlte man auf 0° und gab 3,90 g (37,3 mMol) H₂SO₄ und hierauf 8,70 g DCCI zu. Nach 30 Min. bei 0° und 19 Std. bei 25° wurde vom DCHS abgenutscht und das Filtrat in 800 ml Eiswasser gegossen. Der erhaltene Niederschlag wurde isoliert und aus Methanol-Wasser umkristallisiert, Smp. 202–205°; $[\alpha]_D^{20} = -18^\circ$ ($c = 2$ in Eisessig).

C₂₆H₄₀N₄O₈ (536,61) Ber. C 58,19 H 7,51 N 10,44% Gef. C 57,98 H 7,42 N 10,41%

H-Ser(But)-Asn-Leu-OMe (XII): 12,6 g (23,5 mMol) X wurden in Methanol wie üblich hydriert. Das erhaltene Produkt ist zur weiteren Umsetzung genügend rein; zur Analyse wurde zweimal aus Acetonitril kristallisiert, Smp. 131–132°; $[\alpha]_D^{20} = -49^\circ$ ($c = 1,0$ in Wasser).

C₁₈H₃₄N₄O₆ (402,5) Ber. C 53,71 H 8,52 N 13,92% Gef. C 53,81 H 8,36 N 13,98%

Boc-Cys(Trt)-Ser(But)-Asn-Leu-OMe (XV): 6,0 g (12,9 mMol) Boc-Cys(Trt)-OH⁵⁾ und 4,7 g ($c = 11,7$) mMol XII löst man in 80 ml Acetonitril und gab bei 0° 3,5 g (17 mMol) DCCI zu. Nach

⁴⁾ Diese Bestimmung verdanken wir Herrn Dr. R. MAIER aus unsern Biologischen Forschungslaboratorien.

⁵⁾ Man führte das nach [5] bereitete, rohe Boc-Cys(Trt)-OH zur Reinigung in das kristalline Diäthylammoniumsalz über (Smp. 165–168° (aus Äther); $[\alpha]_D^{20} = +27^\circ$ ($c = 1,2$ in Chloroform)) und setzte daraus das Produkt durch Verteilen zwischen Äther und 5-proz. Zitronensäurelösung wieder frei.

30 Min. bei 0° und 72 Std. bei 25° nutschte man vom DCHS ab, dampfte das Filtrat zur Trockne ein und fällte den Rückstand viermal aus Aceton-Petroläther um. Das als festes Pulver erhaltene XV zeigte Smp. 150–178°; $[\alpha]_D^{20} = -11^\circ$ ($c = 2,0$ in Methanol); Rf 0,50 (Chloroform-Methanol 9:1), 0,7 (43A).

$C_{45}H_{61}N_5O_9S$ Ber. C 63,73 H 7,23 N 8,26 S 3,78%
(848,07) Gef. „ 63,79 „ 7,23 „ 8,11 „ 3,66%

Boc-Cys(Trt)-Ser(But)-Asn-Leu-NHNH₂ (XVIII): Eine Lösung von 10,0 g (11,8 mMol) XV in 100 ml Methanol wurde auf 0° gekühlt, mit 10 ml Hydrazinhydrat versetzt und 15 Std. bei 0° belassen, wobei sich das Tetrapeptidhydrazid in gallertiger Form ausschied. Dann wurde 1 l eiskalte, 10-proz. wässrige Essigsäurelösung zugegeben, die Fällung zerrieben, genutscht, mit Wasser neutral gewaschen und getrocknet. Das Rohprodukt wurde in Acetonitril suspendiert und das unlösliche Hydrazid abgenutscht; wiederholtes Einengen des Filtrats gab zwei weitere Anteile XVIII, Totalausbeute 8,8 g. Zur Analyse wurde aus Methanol umgefällt, Smp. 214–216°; $[\alpha]_D^{20} = -12^\circ$ ($c = 2$ in Eisessig); Rf 0,60 (Chloroform-Methanol 8:2); 0,50 (Dioxan-Wasser 98:2).

$C_{44}H_{61}N_5O_6S$ Ber. C 62,32 H 7,25 N 11,56 S 3,78%
(848,08) Gef. „ 62,33 „ 7,21 „ 11,61 „ 3,89%

Sequenz 5–9 (XIX). – *Bpoc-Ser(But)-Thr(But)-OMe* (VI): Eine Lösung von 13,2 g (38,6 mMol) Bpoc-Ser(But)-OH⁶) und 5,36 ml (38,6 mMol) Triäthylamin in 250 ml Essigester wurde bei –10° mit 5,13 ml (38,6 mMol) Isobutylchlorcarbonat versetzt und 10 Min. belassen. Dann gab man eine auf –10° gekühlte Lösung von 7,3 g (38,6 mMol) H-Thr(But)-OMe in 80 ml Essigester zu und belies 1 Std. bei –10° und 19 Std. bei 25°. Nach Abnutschen des Triäthylaminhydrochlorids wurde das Filtrat bei 0° wie üblich aufgearbeitet. Man erhielt 22,1 g VI als Öl, welches nach Dünnschichtchromatographie nicht ganz rein war; Rf 0,51 (Toluol-Aceton 7:3).

Bpoc-Ser(But)-Thr(But)-NHNH₂ (XIII): Man löste 4,25 g VI (Rohprodukt) in 20 ml Methanol und gab 5,6 ml Hydrazinhydrat zu. Nach 10 Std. bei 25° und 2 Std. bei 40° nahm man in 250 ml Essigester auf, wusch 4mal mit Wasser, trocknete mit Natriumsulfat, filtrierte und engte die Essigesterlösung auf ca. 15 ml ein. Dann kristallisierte man durch Zugabe von 5 ml Petroläther, Ausbeute 3,17 g (70%), Smp. 132–134°; $[\alpha]_D^{20} = -6^\circ$ ($c = 2,3$ in Methanol); Rf 0,48 (Toluol-Aceton 7:3).

$C_{31}H_{46}N_4O_6$ (570,7) Ber. C 65,24 H 8,12 N 9,82% Gef. C 65,06 H 8,01 N 9,87%

Z-Val-Leu-OMe (VII): Zu einer auf 0° gekühlten Lösung von 14,5 g H-Leu-OMe (100 mMol) und 25,1 g Z-Val-OH (100 mMol) in 300 ml Dimethylformamid gab man 22,6 g DCCI (110 mMol) und belies 20 Std. bei Zimmertemperatur. Dann nutschte man den DCHS ab, dampfte das Filtrat bei 40° und 0,01 Torr ein und arbeitete den Rückstand in Essigester wie üblich auf. Kristallisation aus Essigester-Hexan gab 19,4 g (49%) VII vom Smp. 102–105°; $[\alpha]_D^{20} = -41^\circ$ ($c = 2,3$ in Methanol); Rf 0,57 (Chloroform-Methanol 98:2).

$C_{20}H_{30}H_2O_5$ (378,5) Ber. C 63,47 H 7,99 N 7,40% Gef. C 63,30 H 7,90 N 7,59%

H-Val-Leu-OMe·HCl (IX): 5,66 g (15 mMol) VII wurden in Methanol in Gegenwart von 1 Äq. HCl wie üblich hydriert. Das Produkt kristallisierte man aus Methanol-Äther, Ausbeute 3,84 g (91%), Smp. 136–139°; $[\alpha]_D^{20} = -6^\circ$ ($c = 2,0$ in Methanol); Rf 0,45 (Chloroform-Methanol 9:1).

$C_{12}H_{25}ClN_2O_3$ Ber. C 51,33 H 8,97 Cl 12,63 N 9,98%
(280,8) Gef. „ 51,09 „ 8,90 „ 12,57 „ 10,03%

Trt-Cys(Trt)-Val-Leu-OMe (XI): Eine Lösung von 2,69 g (10,5 mMol) IX in 100 ml Essigester wurde bei 0° mit 1,5 ml (10,7 mMol) Triäthylamin versetzt, vom ausgeschiedenen Triäthylaminhydrochlorid abgenutscht und das Filtrat bei 0° mit 6,05 g (10 mMol) Trt-Cys(Trt)-OH⁷) und 2,26 g DCCI (11 mMol) versetzt. Nach 20 Std. bei 0° nutschte man den DCHS ab, dampfte das Filtrat zur Trockne ein und chromatographierte das Produkt an einer in Petroläther-Essigester (1:1) bereiteten Säule (5 × 55 cm) Silicagel. Nachdem mit diesem Lösungsmittelgemisch zuerst 1,6 g lipophile Nebenprodukte eluiert wurden, gaben die folgenden Fraktionen 5,42 g (65%)

⁶) Dargestellt aus dem kristallinen Cyclohexylammoniumsalz [3] durch Verteilen bei 0° zwischen Chloroform und 5-proz. Zitronensäurelösung.

⁷) Dargestellt durch Verteilen (bei 0°) des kristallinen Diäthylaminsalzes zwischen Essigester und 5-proz. Zitronensäurelösung.

reines XI, das man aus Methanol kristallisierte; Smp. 125–128°; $[\alpha]_D^{20} = +22^\circ$ ($c = 2,0$ in Chloroform); Rf 0,68 (Chloroform-Methanol 19:1).

$C_{53}H_{57}N_3O_4S$	Ber. C 76,50	H 6,90	N 5,05	S 3,85%
(832,1)	Gef. „ 76,70	„ 7,04	„ 5,04	„ 3,87%

H-Cys(Trt)-Val-Leu-OMe (XIV): In eine Lösung von 10,1 g (13,3 mMol) XI in 75 ml Essigsäure wurden 13 ml Wasser so getropft, dass die Lösung stets klar blieb. Nach 1 Std. bei 20° gab man 70 ml Wasser zu, nutschte das Triphenylcarbinol ab, dampfte das Filtrat ein, nahm den Rückstand in Essigester auf und extrahierte die Lösung mit verdünnter $NaHCO_3$ -Lösung und Wasser. Nach Trocknen und Eindampfen der organischen Phase erhielt man 7,1 g XIV, welches nach Dünnschichtchromatographie noch etwas Triphenylcarbinol enthielt; Rf 0,30 (Chloroform-Methanol 98:2).

Bpoc-Ser(But)-Thr(But)-Cys(Trt)-Val-Leu-OMe (XVI): Zu 13,6 g (23,8 mMol) XIII in 220 ml Dimethylformamid wurden bei –10° 30 ml 2N HCl (60 mMol) in Essigester und 3,3 ml (29,0 mMol) *t*-Butylnitrit gegeben. Nach 15 Min. tropfte man unter Rühren eine Lösung von 14,0 g (23,8 mMol) XIV und 8,3 ml (59,4 mMol) Triäthylamin in 100 ml Dimethylformamid zu, wobei man die Temperatur bei –10° hielt. Dann rührte man 1 Std. weiter, erwärmte auf 20°, belies 20 Std. bei dieser Temperatur, nutschte das Triäthylaminhydrochlorid ab, dampfte das Filtrat bei 40° und 0,01 Torr ein, nahm den Rückstand in Essigester auf und arbeitete bei 0° wie üblich auf. Das Produkt kristallisierte man aus Essigester-Petroläther; Ausbeute 16,0 g (57%); Smp. 177–178° $[\alpha]_D^{20} = -42^\circ$ ($c = 2,2$ in Methanol); Rf 0,45 (Chloroform-Methanol 98:2).

$C_{65}H_{85}N_5O_{10}S$	Ber. C 69,18	H 7,59	N 6,21	S 2,84%
(1128,5)	Gef. „ 69,18	„ 7,56	„ 6,38	„ 2,87%

Bpoc-Ser(But)-Thr(But)-Cys(Trt)-Val-Leu-OH (XVII): 2,83 g (3 mMol) XVI löste man in 60 ml Dioxan-Wasser (3:1) und gab 3 ml 2N NaOH zu. Nach 1½ Std. bei 20° wurde bei 35° eingedampft, mit 10 ml Wasser und 30 ml Essigester versetzt, auf 0° gekühlt und durch Zugabe von 5-proz. Zitronensäurelösung auf pH 2–3 gebracht. Man nahm das ausgeschiedene XVII im Essigester auf, wusch mit Eiswasser, trocknete mit Natriumsulfat und dampfte ein. Man erhielt das Produkt in amorpher Form, Ausbeute 2,12 g (95%); Rf 0,40 (Chloroform-Methanol 7:3), 0,55 (45).

H-Ser(But)-Thr(But)-Cys(Trt)-Val-Leu-OH (XIX): 2,22 g (2 mMol) XVII löste man in 20 ml Methylenchlorid, gab 12 ml 75-proz. Monochloressigsäure zu und belies 15 Min. bei 20°. Dann kühlte man auf 0°, fügte 70 ml Wasser zu und stellte durch Zugabe von konz. NH_3 -Lösung auf pH 6,5. XIX fiel dabei als Harz aus, das man mehrmals mit Wasser wusch und dann trocknete. Dann zerrieb man mehrmals mit Äther und kristallisierte aus Methanol-Wasser, Smp. 164–168°; $[\alpha]_D^{20} = -16^\circ$ ($c = 2,1$ in Dimethylformamid); Rf 0,48 (45), 0,65 (101), 0,75 (52).

$C_{48}H_{69}N_5O_8S$	Ber. C 65,80	H 7,94	N 7,99	S 3,66%
(876,2)	Gef. „ 65,66	„ 8,11	„ 7,88	„ 3,95%

Sequenz 1–9 (III, IV). – *Boc-Cys(Trt)-Ser(But)-Asn-Leu-Ser(But)-Thr(But)-Cys(Trt)-Val-Leu-OH (XX)*: Man kühlte eine Lösung von 1,8 g (1,26 mMol) XVIII in 15 ml Dimethylformamid und 1,6 ml 2N HCl in Essigester (3,2 mMol) auf –15° und gab 0,174 ml (1,51 mM) *t*-Butylnitrit zu. Nach 15 Min. bei –10° wurde eine auf –12° gekühlte Lösung von 1,104 g (1,26 mM) XIX und 0,61 ml (4,41 mM) Triäthylamin in 15 ml Dimethylformamid zutropft. Nach 1 Std. bei –10° und 15 Std. bei 20° engte man das Gemisch im Hochvakuum bei 40° auf ca. 10 ml ein, versetzte mit 60 ml Wasser, nutschte den pulverigen Niederschlag ab, wusch mit Wasser und trocknete bei 40°. Aus einer bei 50° gesättigten Lösung in Methanol schied sich bei langsamem Abkühlen auf 0° 1,12 g (53%) kristallines XX aus, Smp. 211–213°; $[\alpha]_D^{20} = -2^\circ$ ($c = 2,0$ in Dimethylformamid); Rf 0,54 (43C), 0,65 (121A), 0,50 (45), 0,75 (70), 0,40 (Chloroform-Methanol 8:2). Das Produkt ist in Methanol und Dimethylformamid nur schwer löslich (ca. 1%). Molekulargewicht (vaporometrisch [15], in Methanol): 1680 ± 100 .

$C_{92}H_{126}N_{10}O_{16}S$	Ber. C 65,30	H 7,51	N 8,28	S 3,79%
(1692,2)	Gef. „ 65,20	„ 7,56	„ 8,07	„ 3,92%

Boc-Cys-Ser(But)-Asn-Leu-Ser(But)-Thr(But)-Cys-Val-Leu-OH (III): 846 mg (0,5 mMol) XX wurden in 8 ml Dimethylformamid gelöst und mit 350 mg (1,1 mMol) Quecksilber(II)-acetat in 4 ml Methanol versetzt. Aus der klaren Lösung begann sich nach ca. 5 Min. ein gallertiger Nieder-

schlag auszuscheiden. Das Gemisch wurde nach 1 Std. Rühren bei 20° mit 50 ml Dimethylformamid verdünnt, dann wurden während 20 Min. Schwefelwasserstoff und anschliessend während 15 Min. Stickstoff durchgeleitet. Nach Abfiltrieren und Waschen des schwarzen Niederschlages mit Dimethylformamid engte man das Filtrat im Hochvakuum bei 35° auf 40 ml ein und leitete noch einmal während 15 Min. Stickstoff durch. Diese Lösung tropfte man unter starkem Rühren innert 1 Std. bei 20° zu einem Gemisch von 40 ml Methanol-Dimethylformamid (1:1); gleichzeitig dazu tropfte man eine Lösung von 170 mg (0,6 mMol) Dijodäthan in 40 ml Methanol ein. Nach 10 Std. wurden die Lösungsmittel abgedampft, der Rückstand mit Petroläther, dann mit Wasser gewaschen und lyophilisiert. Das Produkt (600 mg) wurde durch Gegenstromverteilung im System Methanol-Puffer⁸⁾-Chloroform-Tetrachlorkohlenstoff (10:3:5:4) über 135 Verteilungsschritte gereinigt (Phasenvolumen je 10 ml). Das reine III befand sich in den Elementen 41–63 ($r_{\max} = 53$, $K = 0,65$). Diese Fraktionen wurden vereinigt, eingedampft und der Rückstand zur Entfernung der Hauptmenge von Ammoniumacetat bei 40° und 0,01 Torr getrocknet. Zum Abtrennen der letzten Reste dieses Salzes löste man das Material in 5 ml *t*-Butanol-Wasser (4:1), filtrierte über eine mit diesem Lösungsmittelgemisch äquilibrierte Säule (1 × 6 cm) von Amberlyst 15⁹⁾ und lyophilisierte das Eluat. Titration einer Probe mit Natronlauge ergab nun einen Gehalt an freien Carboxylgruppen von 97% d.Th. Ausbeute: 254 mg (42%); $[\alpha]_D^{20} = -16^\circ$ ($c = 2,0$ in Chloroform); Rf 0,42 (45), 0,70 (121A), 0,75 (70), 0,43 (53), 0,22 (43A). Molekulargewicht (vaporometrisch [15], in Methanol): 1200 ± 100 . Im Gegensatz zu XX ist III in Methanol leicht löslich.

$C_{54}H_{96}N_{10}O_{16}S_2$ (1205) Ber. N 11,62 S 5,32% Gef. N 11,81 S 5,32%

H-Cys-Ser-Asn-Leu-Ser-Thr-Cys-Val-Leu-OH (IV): 50 mg III wurden in 1 ml 90-proz. Trifluoressigsäure gelöst und $2\frac{1}{2}$ Std. bei 20° belassen. Dann fällte man mit Äther bei 0°, nutschte ab, trocknete, löste das Pulver in Wasser und filtrierte über eine Säule (1 × 5 cm) von MERCK-Ionenaustauscher Nr. II (Acetatform). Lyophilisation des Eluates gab 27 mg IV. Aminosäureanalyse [19] des Totalhydrolysates (6N HCl, 20 Std. 110°) gab folgendes molares Verhältnis (berechnete Werte in Klammern): Asp 1,03 (1), Thr 1,00 (1), Ser 1,84 (2), $\frac{1}{2}$ (Cys)₂ 1,67 (2), Val 1,00 (Bezugswert), Leu 2,02 (2), NH₃ 1,76. Rf auf Cellulose (Avicel-Fertigplatten 1440 der Firma SCHLEICHER & SCHUELL): 0,65 (52), 0,50 (45), 0,75 (101A).

Für wertvolle technische Mitarbeit danken wir den Herren H. R. KELLER und A. STAUFFER.

Den Herren Dr. W. KESSLER und Dr. B. ISELIN sind wir für die Überlassung von Zwischenprodukten zu Dank verpflichtet.

Chromatographische Analysen wurden in verdankenswerter Weise in unserem Chromatographielabor (Leiter: Herr E. VON ARX) durch Frau K. REIST, Frau M. RIST und die Herren D. FAUPEL und R. STEINER, ausgeführt.

Die Mikroanalysen und Molekulargewichtsbestimmungen verdanken wir unseren Mikroanalytischen Laboratorien (Leitung: Dr. W. PADOWETZ).

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] B. RINIKER, M. BRUGGER, B. KAMBER, P. SIEBER & W. RITTEL, *Helv.* 52, 0000 (1969).
- [2] IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature, *Biochim. biophysica Acta* 121, 1 (1966).
- [3] P. SIEBER & P. ISELIN, *Helv.* 51, 622 (1968).
- [4] W. RITTEL, M. BRUGGER, B. KAMBER, B. RINIKER & P. SIEBER, *Helv.* 51, 924 (1968).
- [5] L. ZERVAS, I. PHOTAKI, A. COSMATOS & D. BOROVAS, *J. Amer. chem. Soc.* 87, 4922 (1965).
- [6] F. WEYGAND & G. ZUMACH, *Z. Naturforsch.* 17b, 807 (1962).
- [7] St. GUTTMANN, J. PLESS, E. SANDRIN, P.-A. JAQUENOUD, H. BOSSERT & H. WILLEMS, *Helv.* 51, 1155 (1968).
- [8] H. C. BEYERMAN & J. S. BONTEKOE, *Proc. chem. Soc.* 1967, 249.
- [9] L. VELLUZ, G. AMIARD, J. BARTOS, B. GOFFINET & R. HEYMÈS, *Bull. Soc. chim. France* 1956, 1464.
- [10] I. PHOTAKI, *J. Amer. chem. Soc.* 88, 2292 (1966).

⁸⁾ Puffer: 28,6 ml Eisessig, 19,25 g Ammoniumacetat, mit Wasser auf 1 l aufgefüllt.

⁹⁾ Der Fa. ROHM & HAAS, Philadelphia, USA.

- [11] B. KAMBER & W. RITTEL, *Helv.* **51**, 2061 (1968).
 [12] J. HONZL & J. RUDINGER, *Coll. czech. chem. Commun.* **26**, 2333 (1961).
 [13] R. B. WOODWARD, R. A. OLOFSON & H. MAYER, *J. Amer. chem. Soc.* **83**, 1010 (1961).
 [14] F. WEYGAND, D. HOFFMANN & E. WÜNSCH, *Z. Naturforsch.* **27b**, 426 (1966).
 [15] D. WEGMANN, C. TOMLINSON & W. SIMON, «Microchemical Journal Symposium Series», Vol. II, «Microchemical Techniques», S. 1069, University Park 1961, N. D. Cheronis ed., New York and London 1962.
 [16] M. A. KUMAR, E. SLACK, A. EDWARDS, H. A. SOLIMAN, A. BAGHDIAZT, G. V. FOSTER & I. MACINTYRE, *J. Endocrinol.* **33**, 469 (1965).
 [17] E. VON ARX & R. NEHER, *J. Chromatog.* **72**, 329 (1963).
 [18] E. SCHRÖDER & K. LÜBKE, «The Peptides», Academic Press, New York 1965.
 [19] D. H. SPACKMAN, W. H. STEIN & S. MOORE, *Analyt. Chemistry* **30**, 1190 (1958).

118. Kinetische Untersuchungen über Substitutionsreaktionen an Metallkomplexen

11. Mitteilung [1]

Die Bildung von Tetrakis(triäthylphosphit)nickel(0) aus Nickelocen — eine Reaktion dritter Ordnung

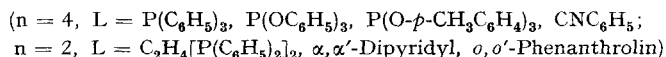
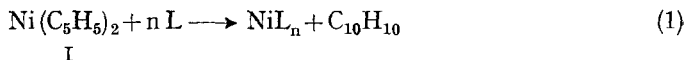
von H. Werner, V. Harder und E. Deckelmann

Anorganisch-chemisches Institut der Universität Zürich

(5. IV. 68)

Summary. Nickelocene $\text{Ni}(\pi\text{-C}_5\text{H}_5)_2$ reacts with triethylphosphite in dioxane at 50–70° to give $\text{Ni}[\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3]_4$. Kinetic studies confirm a third-order rate law for this ligand substitution process with the activation parameters $E_a = 6.8$ kcal/mole and $\Delta S^\ddagger = -53.8$ e.u. The mechanistic implications of these results are discussed.

Bei der Suche nach neuen Syntheseverfahren für Metall(0)-Komplexe des Typs ML_n ($L = \pi$ - oder σ -Donor) wurden wir auf Arbeiten von BEHRENS [2] und OLECHOWSKI [3] aufmerksam, in denen über die Darstellung entsprechender Nickel-Verbindungen gemäss Gleichung (1) berichtet wurde.



Es war auffallend, dass die Bildung der angegebenen Reaktionsprodukte NiL_n teilweise schon unter sehr milden Temperaturbedingungen erfolgte.

Wir interessierten uns im Zusammenhang mit früheren Arbeiten über Umsetzungen von I mit Elektronenmangel-Verbindungen [4] zunächst vor allem für den Mechanismus dieser bemerkenswerten Ligandenverdrängungsreaktion. Als substituierenden Liganden L wählten wir Triäthylphosphit. Die Darstellung von $\text{Ni}[\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3]_4$ (II), durch Reduktion von NiX_2 bzw. $\text{Ni}[\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3]_2\text{X}_2$ ($X = \text{Halogen}$) in Gegenwart von $\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$, war bereits vorher beschrieben worden [5] [6].